Synthese von Xanthon-O-glykosiden

Rosalinde Klapfenberger

1979

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535715_0022

Synthese von Xanthon-O-glykosiden

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

des

Fachbereichs Chemie und Pharmazie

der

Ludwig-Maximilians-Universität

zu München

vorgelegt

von

Rosalinde Klapfenberger

aus

München

Februar 1979

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

1. Berichterstatter: Professor Dr. H. W a g n e r

2. Berichterstatter: Professor Dr. F. E i d e n

Tag der mündlichen Prüfung: 23.5.1979

Meinen lieben Eltern in Dankbarkeit gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

EINLEITUNG 1

ALLGEMEINER TEIL 2

I. Vorkommen von Xanthonglykosiden im System 2

II. Anwendung in der Volksmedizin und Therapie . . . 7

III. Methoden zur Glykosidierung phenolischer Hydroxylgruppen 9

Xanthon-3-O-glykoside 10

I. Darstellung der Acetobromzucker 10

II. Synthese von 1,3-Dihydroxy-xanthon-3-O-β-D-glucopyranosid und 1,3-Dihydroxy-xanthon-3-O-β-cellobiosid 17

III. Synthese von 1,3-Dihydroxy-7-methoxy-xanthon-3-O-β-D-glucopyranosid (Isogentisin-3-O-glucosid) 22

IV. Synthese und Strukturbeweis von 1,3-Dihydroxy-7-methoxy-xanthon-3-O-β-primverosid (Gentiosid) . . 25

Xanthon-1-O-glykoside 31

I. Synthese von 1-Hydroxy-3-methoxy-xanthon-1-O-β-cellobiosid 31

II. Synthese von 1,3-Dihydroxy-5-methoxy-xanthon-1-O-β-D-glucopyranosid 34

III. Synthese von 1-Hydroxy-3,7,8-trimethoxy-xanthon-1-O-β-primverosid 40

IV. Synthese von 1,7-Dihydroxy-3,8-dimethoxy-xanthon-1-O-β-primverosid 43

Zur Pharmakologie der Xanthon-O-glykoside 46

I. Antidepressive Wirkung und Monoaminoxydase-Hemmung 46

II. Verbindungen mit MAO-Hemmwirkung 49

III. Versuchsergebnisse aus dem Laboratorium von Prof.Suzuki 51

IV. Diskussion und Vergleich der Ergebnisse mit denen bisher bekannter Verbindungen 62

ZUSAMMENFASSUNG 64

Seite

EXPERIMENTELLER TEIL 65

Allgemeine Untersuchungs- und Arbeitsmethoden 65

I. Dünnschichtchromatographie 65

II. Säulenchromatographie 66

III. Physikalische Untersuchungen 66

IV. Chemische Verfahren 68

Xanthon-3-O-glykoside 70

I. Synthese von 1,3-Dihydroxy-xanthon-3-O-β-D-glucopyranosid 70

II. Synthese von 1,3-Dihydroxy-xanthon-3-O-β-cellobiosid 73

III. Synthese von 1,3-Dihydroxy-7-methoxy-xanthon-3-O-β-D-glucopyranosid 75

IV. Synthese von 1,3-Dihydroxy-7-methoxy-xanthon-3-O-β-(hexa-O-acetyl)-primverosid (Gentiosid) . . 78

Xanthon-1-O-glykoside 87

I. Synthese von 1-Hydroxy-3-methoxy-xanthon-1-O-β-cellobiosid 87

II. Synthese von 1,3-Dihydroxy-5-methoxy-xanthon-1-O-β-D-glucopyranosid 89

III. Synthese von 1-Hydroxy-3,7,8-trimethoxy-xanthon-1-O-β-primverosid (Decussatin-1-O-primverosid) . 94

IV. Synthese von 1,7-Dihydroxy-3,8-dimethoxy-xanthon-1-O-β-primverosid (Gentiacaulein-1-O-β-primverosid) 96

LITERATURVERZEICHNIS 98

E I N L E I T U N G

Die Xanthone stellen eine im Pflanzenreich relativ selten vorkommende Stoffklasse dar. Bis zum Jahre 1961 kannte man keine natürlich vorkommenden Xanthone, mit Ausnahme des Xanthon-C-glykosides Mangiferin. O-Glykoside wurden erst in den letzten fünf Jahren im Rahmen von systematischen Untersuchungen in den Gattungen Swertia, Gentiana und Canscora der Ordnung Gentianales aufgefunden.

Da bisher für keines dieser Glykoside der Strukturbeweis durch die Synthese erbracht wurde, war es das erste Ziel dieser Arbeit, einige Xanthonglykoside mit verschiedenen Zuckerresten und Zuckerverknüpfungen zu synthetisieren.

Nachdem von einigen Autoren Anhaltspunkte dafür erbracht worden waren, daß Xanthone, bzw. Xanthonglykoside möglicherweise für die antidepressive Wirkung einiger xanthonhaltiger Pflanzenextrakte verantwortlich sein könnten, sollten erstmals pharmakologische Untersuchungen mit rein dargestellten Xanthon-Aglykonen und O-Glykosiden durchgeführt werden.

A L L G E M E I N E R T E I L

I. Vorkommen von Xanthonglykosiden im System

Im Jahre 1961 berichtete erstmals ROBERTS[1] über das Vorkommen von Xanthonen in einigen Pflanzenarten. Sieben Verbindungen wurden aus der Gentianaceen- und drei aus der Guttiferenfamilie isoliert. Acht Jahre später fanden CARPENTER u. Mitarb.[2] zwanzig weitere Xanthone in Vertretern der Angiospermen-Abteilung. Besonders häufig wurden sie in den letzten Jahren in Swertia-, Gentiana- und Canscora-Arten angetroffen.

Unter den Xanthonglykosiden dominieren die O-Glykoside, während C-Glykoside nur vereinzelt auftreten. Das bekannteste und in der Zwischenzeit in mehreren Familien[1)3)4)] gefundene C-Glykosid ist das zum erstenmal im Jahre 1908 von WIECHOWSKI[5] aus Mangifera indica isolierte Mangiferin.

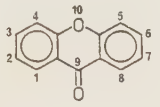
Bis zum Jahre 1969 kannte man drei natürlich vorkommende Xanthon-O-glykoside: das aus Gentiana acaulis isolierte Gentiacaulosid[6], das Gentiosid aus Gentiana lutea[7] und Swertianolin aus Swertia japonica[1]. Heute sind dreißig natürlich vorkommende Xanthon-O-glykoside bekannt (Tab. 1).

Unter diesen Verbindungen findet man O-Monoside und O-Bioside. Auffallend ist, daß bei den Xanthonmonoglykosiden im Gegensatz zu den Flavonoidglykosiden, bei denen verschiedene Monosaccharide, so z.B. D-Galactose, L-Rhamnose, L-Arabinose oder D-Apiose auftreten, bis jetzt als einziger Zucker β-D-Glucose gefunden wurde.

Nur zwei Disaccharide sind bisher bei Xanthonglykosiden bekannt geworden: die häufiger auftretende Primverose (6-O-(β-D-Xylopyranosyl)-β-D-glucopyranose) und die bisher nur in Canscora decussata Schult.[8] und Gentiana bavarica L.[9] vorkommende Rutinose (6-O-(α-L-Rhamnopyranosyl)-β-D-glucopyranose).

T a b e l l e 1

Natürlich vorkommende Xanthon-O-glykoside

				Stammpflanze	Lit.
O-Glykoside 3-fach substituierter Xanthone					
1	3	5			
OMe	O-rut.	OH		Canscora decussata	(8)
1	3	7			
OH	O-prim.	OMe		Gentiana lutea	(7,12)
				G. pannonica	(13)
				G. punctata	(13)
				G. purpurea	(13)
O-Glykoside 4-fach substituierter Xanthone					
1	3	4	5		
O-glc.	OH	OMe	OMe	Swertia bimaculata	(14)
O-glyk.	OH	OMe	OMe	S. bimaculata	(15)
OH	O-glc.	OMe	OMe	S. bimaculata	(14)
1	3	5	8		
O-glc.	OH	OH	OH	S. purpurascens	(16)
				S. racemosa	(17)
				S. randaiensis	(3)
O-glc.	OMe	OH	OH	S. purpurascens	(16)
				S. racemosa	(17)
				S. japonica	(1)
O-glc.	OMe	OMe	OH	S. bimaculata	(15)
				Frasera caroliniensis	(18)
OH	OH	OH	O-glc.	Gentiana campestris	(19)
				G. germanica	(20)
				G. ramosa	(20)
				Swertia perennis	(21)
				S. purpurascens	(16)

Fortsetzung ⟶

Fortsetzung Tabelle 1:

1	3	7	8		
O-glc.	OH	OH	OH	Swertia dilatata	(17)
				S. gracilescens	(17)
				S. perennis	(21)
				Gentiana bavarica	(9)
O-prim.	OH	OH	OH	G. bavarica	(9)
				G. verna	(22)
O-prim.	OMe	OH	OH	G. bavarica	(9)
				G. verna	(22)
				G. nivalis	(23)
OH	OMe	O-rut.	OH	G. bavarica	(9)
OH	OMe	O-rut.	OH	G. bavarica	(21,9)
OH	OMe	OH	O-glc.	G. verna	(22)
OH	OMe	OH	O-prim.	G. alpina	(26)
				G. ciliata	(26)
				G. kochiana	(27)
O-prim.	OMe	OMe	OH	Swertia perennis	(9)
O-prim.	OMe	OH	OMe	Gentiana bavarica	(21)
				G. nivalis	(23)
				G. verna	(22)
O-glc.	OMe	OH	OH	G. ciliata	(10)
OH	OMe	O-prim.	OH	G. ciliata	(10)
OH	OMe	O-prim.	OMe	G. alpina	(26)
				G. angustifolia	(26)
				G. ciliata	(26)
				G. clusii	(26)
				G. kochiana	(26)
OMe	O-glc.	OMe	OH	G. ciliata	(11)
OMe	O-prim.	OMe	OH	G. alpina	(26)
				G. angustifolia	(26)
				G. ciliata	(26)
				G. clusii	(26)
				G. kochiana	(27)

Fortsetzung ⟶

Fortsetzung Tabelle 1:

1	3	7	8		
O-prim.	OMe	OMe	OMe	G. alpina	(26)
				G. bavarica	(21)
				G. ciliata	(26)
				G. clusii	(26)
				G. nivalis	(23)
				G. verna	(22,28)
				Swertia perennis	(9)
O-glc.	OMe	OMe	OMe	Gentiana ciliata	(10)
O-glc.	OMe	OH	OMe	G. ciliata	(10)

O-Glykoside 5-fach substituierter Xanthone

1	2	3	4	7		
O-glyk.	OMe	OMe	OH	OMe	Swertia bimaculata	(15)

1	3	4	5	8		
O-glc.	OH	OMe	OMe	OH	Gentiana campestris	(29)
					G. germanica	(20)
					G. ramosa	(20)

1	3	5	6	7		
OH	OMe	OH	OH	O-glc.	Hoppea dichotoma	(11)

Die bisher bekannten Aglykone enthalten drei, vier oder fünf Hydroxylgruppen, wobei man Glykosidierungen bevorzugt in 1- und 3-Stellung findet. Nur zwei 3-fach substituierte O-Glykoside wurden bis jetzt isoliert: das 1,3-Dihydroxy-7-methoxy-xanthon-3-O-primverosid (Gentiosid) aus den Wurzeln verschiedener Gentiana-Arten[24,25] und das 3,5-Dihydroxy-1-methoxy-xanthon-3-O-rutinosid aus Canscora decussata[8]. Häufiger dagegen findet man 4-fach substituierte Glykoside, bevorzugt mit Hydroxylgruppen in C-1-, C-3-, C-7- und C-8-Stellung, darunter dreizehn

Glucoside, zwei Rutinoside und neun Primveroside. Von KALDAS u. Mitarb.[29] wurde das erste 5-fach substituierte Xanthon-O-glykosid, das 3,8-Dihydroxy-4,5-dimethoxy-xanthon-1-O-glucosid aus Gentiana campestris isoliert. GHOSAL u. Mitarb.[11] gelang kürzlich die Isolierung eines weiteren 5-fach substituierten Xanthon-O-glykosids aus Hoppea dichotoma, Gentianaceen. Es handelt sich um das 1,5,6-Trihydroxy-3-methoxy-xanthon-7-O-glucosid, das erste 7-O-Glykosid mit einer Hydroxylfunktion in C-6-Stellung. Eine Substitution an dieser Stelle war bisher unbekannt.

In allen bis jetzt strukturell aufgeklärten Glykosiden findet man die glykosidische Bindung vorwiegend am C-1, seltener am C-3 und nur vereinzelt am C-7 und C-8[30]. Die Tatsache, daß sich bei mehr als 70% aller Xanthon-O-glykoside die Zucker in Position 1 befinden ist insofern erstaunlich, da phenolische OH-Gruppen in peri-Stellung zu einer Carbonylgruppe wegen starker Chelierung für die Glykosidierung im allgemeinen weniger bevorzugt sind. So findet man unter den Flavonoidglykosiden äußerst selten C-5-O-Glykoside[31]. Möglicherweise erfolgt bei den Xanthonen die Glykosidierung bereits vor dem endgültigen Ringschluß.

Die Glykosidierungsstelle ist nicht nur biogenetisch interessant, sondern bietet zugleich auch Anhaltspunkte für chemotaxonomische Fragestellungen[32,33]. Da die Stellung der Hydroxylgruppen innerhalb einer bestimmten Pflanzengruppe immer gleich ist, kann diese für chemotaxonomische Zuordnungen z.B. innerhalb der Gattung Gentiana von Bedeutung sein. Die einzelnen Arten können nur auf Grund ihrer unterschiedlichen Glykosidierungsmuster charakterisiert werden. Eine systematische Untersuchung von Gentiana bavarica[9,21], Gentiana nivalis[23] und Gentiana verna[22,28] (Sektion Cyclostigma) z.B. zeigte, daß jede Art ihre spezifischen Glykoside aufweist, wenn man von den zwei weit verbreiteten 1-O-Glykosiden, 1-Hydroxy-3,7,8-trimethoxy-xanthon-1-O-primverosid (Decussatin-1-O-primverosid) und 1,7-Dihydroxy-3,8-dimethoxy-xanthon-1-O-primverosid (Gentiacaulein-1-O-primverosid) absieht. So findet man z.B.

Gentiabavarutinosid und Desacetylgentiabavarutinosid in hoher Konzentration in Gentiana bavarica, während diese in Gentiana nivalis und Gentiana verna nicht auftreten. Andererseits ist z.B. für Gentiana verna das Swertianin-8-O-glucosid charakteristisch. Es ist das einzige 8-O-Glykosid der Sektion Cyclostigma.

Andere Glykoside, wie etwa Bellidifolin oder Norswertianin, die sowohl in Gentiana- wie auch in Swertia-Arten gefunden wurden, können als wichtiges Bindeglied zwischen beiden Gattungen angesehen werden[32].

Eine Übersicht über das Vorkommen von Xanthonglykosiden im Pflanzenreich ist kürzlich von HOSTETTMANN u. WAGNER erschienen[30].

II. Anwendung in der Volksmedizin und Therapie.

Drogenauszüge verschiedener Gentianaceen sind in der Volksmedizin Europas, besonders aber der Asiens seit langem zur Behandlung einer Reihe von Krankheiten verwendet worden. So wird z.B. noch heute in Indien aus den Blättern von Canscora decussata Schult. ein Extrakt zubereitet, der besonders zur Behandlung psychopathologischer Zustände, wie Manie, Depressionen etc. wirksam sein soll[33]. Zusätzlich werden diesen Extrakten aus Rinde und Blättern auch fiebersenkende, purgative[34] und sogar tuberkulostatische Wirkungen zugeschrieben. Nach den heute vorliegenden Ergebnissen darf man annehmen, daß zumindest teilweise Xanthone für diese Wirkungen verantwortlich gemacht werden können.

Das Xanthon-C-glykosid Mangiferin war das erste Xanthon, das pharmakologisch näher untersucht wurde. Die von FINEGAN u. Mitarb.[35] gefundene diuretische und die Herztätigkeit stimulierende Wirkung konnte später von BHATTACHAYRA u. Mitarb.[36] zwar nicht voll bestätigt werden, doch fand man, daß Mangiferin in einer Dosierung von 50 bis 100 mg/kg zu einer bemerkenswerten Stimulierung des zentralen Nervensystems (ZNS) führte.

Durch vorausgegangene Behandlung mit Chlorpromazin konnte dieser Effekt blockiert werden. Weiter konnte festgestellt werden, daß die von Mangiferin induzierte Steigerung der antinociceptiven Wirkung, z.B. bei der Anwendung von Morphin, durch den verzögerten Abbau von 5-Hydroxy-tryptamin hervorgerufen wurde. Dieses Ergebnis erinnert sehr an die Wirkungsweise bekannter Monoaminoxidase-Hemmer, wie etwa die des Nialamids.

Im Gegensatz zu den für Mangiferin und mehrfach hydroxylierten Xanthonen beschriebenen Wirkungen, wurde von SHARMA et al. mehrmals Ergebnisse publiziert[37,38,39], die auf eine ZNS-dämpfende Wirkung, speziell bei der Anwendung von xanthon-O-glykosidhaltigen Extrakten deuteten.
Im Rahmen eines pharmakologischen Screenings von Swertia purpurascens Wall. (Gentianaceen) beobachtete GHOSAL u. Mitarb.[40] später, bei Anwendung xanthonhaltiger Pflanzenextrakte eine veränderte Verhaltensweise von Ratten, Mäusen und Hunden im Sinne eines zentral stimulierenden Effekts. Er vermutete, daß dieser Effekt auf eine Hemmung der Monoaminoxidase zurückzuführen sei.

Diese etwas widersprüchlichen Ergebnisse veranlaßten eine italienische Forschergruppe[41] nach den Zusammenhängen von Molekülaufbau und pharmakologischer Wirksamkeit zu suchen. Sie synthetisierten eine Reihe von Modellverbindungen, beschränkten sich aber im wesentlichen auf N-disubstituierte 4-Aminomethyl-xanthone und andere Acridonderivate.

Die Untersuchungsreihe führte zu dem Ergebnis, daß der Austausch des Sauerstoffs im heterocyclischen Ring gegen eine NH-Gruppe eine Zunahme der ZNS-stimulierenden Wirkung hervorruft. Ebenso besitzt das an sich wirksame 4-Aminomethyl-xanthon nach Verlängerung der Aminomethylkette um einige CH_2-Gruppen keine stimulierende Wirkung. Die Abnahme des Stimulationseffekts erfolgt kontinuierlich mit zunehmender Kettenlänge.
Furanoxanthone in denen die Methoxygruppe und die Aminomethylkette in der Struktur des Dihydrofuranrings starr verknüpft sind, erwiesen sich als völlig inaktiv.

III. Methoden zur Glykosidierung phenolischer Hydroxylgruppen

Die einfachste Methode zur Glykosidierung von Alkoholen ist die sog. Fischer-Synthese mit ihren zahlreichen Varianten, die alle von Protonen- oder Lewissäuren katalysiert werden und thermodynamisch kontrolliert sind. Die ursprüngliche Fischer-Synthese ist nur auf niedermolekulare, aliphatische Alkohole anwendbar. Als Variante der thermodynamisch kontrollierten Glykosidsynthese gilt die Methode nach Helferich, bei der peracylierte, meist peracetylierte Monosaccharide mit Phenolen umgesetzt werden, indem in Gegenwart einer Säure und bei Temperaturen von 100 - 130°C ein Austausch der Acetoxygruppe am anomeren Kohlenstoff gegen das gewünschte Aglykon stattfindet. Häufig entstehen Gemische von α- und β-Form, wobei durch Anwendung von Lewissäuren die α-Glykoside bevorzugt entstehen. Die einzig wirklich stereoselektive Glykosidsynthese, die fast ausschließlich β-Glykoside liefert, ist die Synthese nach Königs und Knorr[42]. Sie wurde bereits im Jahre 1901 entwickelt, wird aber auch heute noch am häufigsten zur Glykosidierung phenolischer Hydroxylgruppen an Flavonen, Isoflavonen, Chalkonen und Flavanonen[43,44,45,46] verwendet. Das Prinzip der Methode beruht auf der Reaktion acylierter Glykosylhalogenide mit Alkoholen bzw. Phenolen in Gegenwart einer unlöslichen Silberverbindung, meist AgO oder Ag_2CO_3. Das dabei gebildete Wasser reagiert ebenfalls mit der Halogenose und vermindert die Ausbeute. Dies wird heute dadurch umgangen, daß man dem Reaktionsgemisch ein anorganisches Trocknungsmittel (z.B. Drierite^R) zusetzt und bei Raumtemperatur arbeitet. Als acetylierte Halogenzucker setzt man fast immer die Bromide ein, da sie reaktionsfähiger als die Chloride und dennoch hinreichend stabil sind. Acetylierte Jodverbindungen, ebenso wie Fluoride reagieren unter den Bedingungen der Königs-Knorr-Synthese nicht.

Die Aceton-Kalilauge-Methode nach ZEMPLEN[47] wird ebenfalls häufig zur Glykosidierung phenolischer Verbindungen angewandt. Dabei wird das Aglykon in Aceton suspendiert und mit dem in

Aceton gelosten Acetobromzucker versetzt. Unter Eiskühlung läßt man gleichzeitig 1%ige Kalilauge zutropfen.

Zu erwähnen ist noch die sog. Silbersalzmethode,[48] die vorzugsweise zur Glykosidierung komplizierterer Verbindungen, wie Steroidalkoholen, Verwendung findet und schließlich die Orthoester-Methode, die oft die Methode der Wahl zur Darstellung von Di- und Oligosacchariden ist[49].

In jüngster Zeit wird zur Glykosidierung kompliziert aufgebauter Phenole häufig Cadmiumcarbonat als Katalysator verwendet. Mehrere Steroide, wie z.B. der Triacetylmethylester des 17-β-Estradiols wurden auf diese Weise zu 3-β-D-Glucuroniden glykosidiert[50,51]. Die Kondensation erfolgt ähnlich einer Konigs-Knorr-Synthese, unter Verwendung eines α-Halogenzuckers und Cadmiumcarbonat als Katalysator.

Eine Übersicht über die verschiedenen Glykosidierungsverfahren zur Darstellung von Flavon-O-glykosiden wurde von WAGNER[25] herausgegeben.

Xanthon-3-O-glykoside

I. Darstellung der Acetobromzucker

Zur Darstellung der α-Acetobromzucker verwendet man die entsprechenden per-O-acylierten Zucker (α- und β-Form) und setzt sie nach FISCHER[52] mit Bromwasserstoff/Eisessig um.

D-Glucose und D-Xylose wurden nach dem bewährten Verfahren von BARCZAI-MATOS u. KOROSY[53] in das entsprechende α-Acetobromderivat übergeführt: Das Per-O-acetat wurde in Gegenwart von Essigsäureanhydrid und Perchlorsäure mit rotem Phosphor und Brom behandelt und anschließend mit einer bestimmten Menge Wasser versetzt. Der so entstandene Bromwasserstoff reagierte zumeist in relativ guten Ausbeuten mit dem Peracetat zu einem

kristallisierbaren Acetobromzucker. Die Reaktion wurde immer bei einer Temperatur unterhalb von 20°C durchgeführt.

Bei dieser sehr häufig angewandten Bromierungsmethode erhält man im allgemeinen den Acetobromzucker in der α-Form. Dieser erstmals von LEMIEUX[54] beschriebene "anomere Effekt"[55] ist darauf zurückzuführen, daß eine äquatorial an das anomere C-Atom gebundene Gruppe weniger stabil als in anderen Positionen des Ringes ist. Erklärt wurde dieser Effekt durch Abstoßungskräfte zwischen dem äquatorialen C-Br-Dipol und dem aus den beiden C-O-Dipolen des Pyranoseringes resultierenden Dipol. Diese Dipole bilden einen kleinen Winkel, wenn der Substituent äquatorial und einen großen, wenn er axial steht.

Die Darstellung der α-Acetobromcellobiose erfolgte nach einer Vorschrift von BRAUNS[56] für α-Acetobromgentiobiose. Durch laufende Messung der optischen Drehung während der Bromierung ermittelte BRAUNS optimale Reaktionsbedingungen: Eine 10%ige Lösung von Cellobioseoctaacetat in Chloroform wurde bei 0°C mit einem 7-fachen Überschuß von Bromwasserstoff in Eisessig 90 Min. lang bromiert. Die weitere Aufarbeitung des Produktes erfolgte in üblicher Weise.

Für die Synthese verschiedener Primveroside war es notwendig, kupplungsfähige Halogen-Primverose herzustellen.
Es war naheliegend, eine bereits im Jahre 1938 von ZEMPLEN u. BOGNAR[57] ausgearbeitete Vorschrift zu übernehmen, die in recht guten Ausbeuten α-Acetochlorprimverose liefern sollte.

Ausgehend von 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl-β-D-glucopyranose, die aus D-Glucose mit Acetanhydrid hergestellt worden war, wurde unter Verwendung von Phenol und einer katalytischen Menge von p-Toluolsulfonsäure in guten Ausbeuten Phenyltetra-O-acetyl-β-D-glucopyranose hergestellt. Die Verbindung kristallisierte nach einer Wasserdampfdestillation sehr gut aus Äthanol.

Die nächste Stufe, das Triacetyl-Laevoglucosan (1,6-Anhydro-β-glucopyranosetriacetat), war zugänglich durch 20stündiges

Erhitzen von Phenyl-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranose in Natronlauge und anschließender Acetylierung mit Essigsäureanhydrid/Natriumacetat.

Durch Einwirken von Titantetrachlorid in Chloroform erhielten wir anschließend aus Triacetyl-Laevoglucosan in mäßiger Ausbeute (max. 22%) die gewünschte α-1-Chlor-2,3,4-triacetyl-glucose. Einige Faktoren können bei unexakter Ausführung erheblichen Einfluß auf den Ablauf dieses Reaktionsschrittes nehmen: So ist z.B. die genaue Menge des zugesetzten Alkohols bzw. die Qualität des verwendeten Chloroforms von entscheidender Bedeutung, da Spuren von Wasser oder Alkohol auf Grund ihrer Protonendonatoreigenschaften als sog. "Co-Katalysatoren"[58] fungieren und den Ablauf der Reaktion überhaupt erst möglich machen. Als optimal hat sich ein Zusatz von 1/4 bis 1/2 Mol Äthanol erwiesen. Bei einer Menge > 2 Mol, ebenso bei Verwendung von Chloroform p.A. oder frisch destilliertem Chloroform war die Reaktion nicht reproduzierbar !
Von ebenso großer Wichtigkeit sind Qualität, Beschaffenheit und Menge des verwendeten Titantetrachlorids, da es im Reaktionsablauf eine Doppelfunktion erfüllt: Titantetrachlorid dient nicht nur als Reaktionspartner, sondern auch als Katalysator. Die zugefügte Menge muß mindestens 2 Mol $TiCl_4$/1 Mol Substrat betragen, da Titantetrachlorid teils zur Komplexbildung verbraucht wird, zum anderen Teil das Chloridion liefert. Es muß darauf geachtet werden, daß das leicht flüchtige Titantetrachlorid sehr langsam und unter Ausschluß von Luft hinzugefügt wird.

Schwierigkeiten bereitete die Abtrennung von nicht umgesetztem Triacetyl-Laevoglucosan und der entstandenen α-1-Chlor-2,3,4-triacetylglucose. Die Ausnützung der unterschiedlichen Polarität und Löslichkeit, z.B. durch Umlösen aus erwärmten Cyclohexan, führte nur unter erheblichen Mengenverlusten zur gewünschten Trennung, da die Löslichkeitsunterschiede sehr gering waren. - Die Verwendung anderer "Co-Katalysatoren" wie Essigsäure oder Phenol, lieferte auch kein zufriedenstellenderes Ergebnis.

Die Kupplung zur α-Acetochlorprimverose erfolgte schließlich mit α-Acetobromxylose, die nach den Vorschriften von BARCZAI-MATOS und KOROSY[53] in 83%iger Ausbeute gewonnen werden konnte. Die Kupplung wurde in Gegenwart von Quecksilber-II-acetat durchgeführt, die Aufarbeitung erfolgte mit 5%iger Kaliumjodidlösung. Die mäßigen Ausbeuten von ca. 8 - 10% d.Th. konnten auch bei mehrfach wiederholten Versuchen nicht erhöht werden.

Eine andere Möglichkeit α-Acetochlorprimverose in möglicherweise größeren Ausbeuten zu gewinnen, war die Spaltung von α-Methyl-primverose-hexaacetat mit Dihalogenmethyl-methyläthern nach einer modifizierten Vorschrift von SZABO, BOGNAR und FARKAS[59]. Die genannten Autoren hatten eine derartige Spaltung erfolgreich an mehreren acetylierten Glykosiden durchgeführt.

Hierzu wurde zunächst Glucose mit Methanol in Gegenwart des Kationenaustauscherharzes Dowex 50^{R} (in der Säureform) zu α-Methyl-D-glucopyranose methyliert. Die Kupplung zu α-Methyl-primverose-hexaacetat erfolgte in einer Mischung aus Chloroform, Silberoxyd und Drierite^{R} in Gegenwart von Jod und frisch kristallisierter α-Acetobromxylose.

Die Reaktion des aus Äther/Chloroform gut kristallisierbaren α-Methyl-primverose-hexaacetats mit Dichlormethyl-methyläther in Gegenwart von Zinkchlorid hatte, wie später Schmelzpunkt, DC und ein aufgenommenes H-NMR-Spektrum bestätigten, keinen Erfolg. Es entstand nicht die gewünschte α-Acetochlor-primverose, sondern nur ein Gemisch von verschiedenen Spaltprodukten. Auch der Versuch, 1,6-Anhydro-β-glucopyranose-triacetat mit Dichlormethyl-methyläther zu spalten, um so α-1-Chlor-2,3,4-triacetylglucose zu erhalten, verlief ohne Ergebnis.

Hinzu kam, daß sich die nach der Vorschrift von ZEMPLEN und BOGNAR[57] hergestellte α-Acetochlorprimverose als nicht kupplungsfähig erwies. Mehrere Versuche einer Glykosidierung verschiedener Aglykone unter den verschiedenen Bedingungen einer Königs-Knorr-Synthese führten nicht zu den gewünschten Glykosiden. Die Ursache liegt vermutlich in der allgemein geringen Reaktivität von Chlorzuckern.

Wir konzentrierten uns deshalb darauf, eine Vorschrift von McCLOSKEY u. COLEMAN[60], die wiederum auf Versuchen von HELFERICH u. RAUCH[61] basierte, zu modifizieren, um die reaktionsfähigere α-Acetobrom-primverose herzustellen. Wir gingen aus von 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-O-triphenyl-methyl-β-D-glucopyranose, die durch 25stündiges Rühren von D-Glucose, frisch kristallisiertem Triphenyl-methylchlorid und wasserfreiem Pyridin bei 40°C und anschließender Zugabe von Acetanhydrid gewonnen werden konnte. Das aus Äthanol gut kristallisierbare Produkt wurde dann in Eisessig gelöst, erhitzt und mit einer gesättigten Lösung von Bromwasserstoff in Eisessig behandelt. Auf diese Weise konnte Triphenylmethylbromid ausgefällt und in der Lösung enthaltene 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranose nach den üblichen Methoden gereinigt und kristallisiert werden.

Die Kupplung zu β-Primveroseheptaacetat erfolgte wieder in Chloroformlösung in Gegenwart von Silberoxyd und Drierite[R]. Nach Zugabe von α-Acetobromxylose und wenig Jod wurde unter völligem Ausschluß von Feuchtigkeit zum Vollacetat gekuppelt, das aus absolutem Äther in weißen Nadeln kristallisierte. Der Schmelzpunkt von 217°C und die Ausbeute von ca. 55% d.Th. waren gut reproduzierbar.

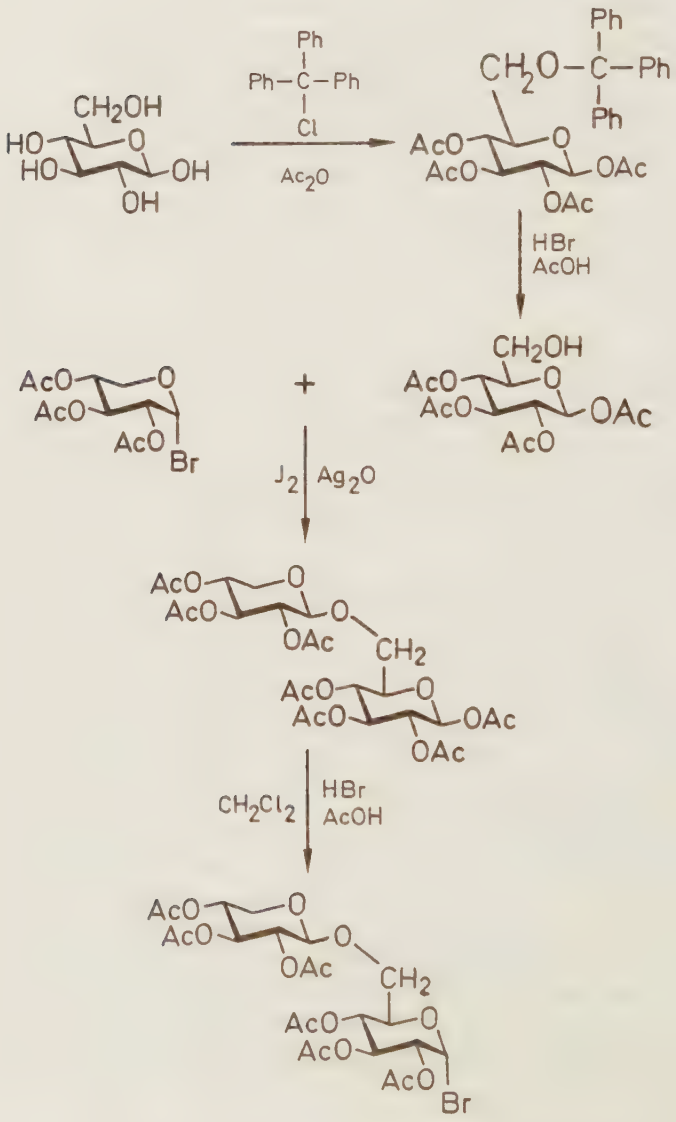
Die Bromierung zur α-Acetobromprimverose erfolgte in Dichlormethanlösung durch langsames Zutropfen einer 40%igen Lösung von Bromwasserstoff in Eisessig. Anschließend wurde 90 Min. lang bei 0°C aufbewahrt. Nach der üblichen Aufarbeitung mit $NaHCO_3$-Lösung konnte mit Hilfe der präparativen Dickschichtchromatographie α-Acetobromprimverose als Sirup gewonnen werden. Eine Kristallisation gelang im Gegensatz zum entsprechenden Chlorzucker nicht. Die auf diese Weise hergestellte α-Acetobromprimverose konnte jetzt erfolgreich zur Glykosidierung eingesetzt werden.

Eine weitere Möglichkeit, β-Primveroseheptaacetat in guten Ausbeuten zu erhalten (40% d.Th.) war die Kupplung von 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranose mit α-Acetobromxylose nach einer modifizierten HELFERICH und ZIRNER-Methode[62]. Dabei

wurde als Lösungsmittel Acetonitril verwendet und vorsichtig eine Lösung aus Quecksilber-II-cyanid und Quecksilber-II-bromid zum Reaktionsgemisch getropft. Nach Aufarbeitung und Reinigung konnte β-Primveroseheptaacetat in kristalliner Form gewonnen werden. Dieses ließ sich ebenfalls mit einer 40%igen Lösung aus Bromwasserstoff/Eisessig bromieren.

Für die Darstellung der Primverose haben wir vor allem die nach einer modifizierten Methode von McCLOSKEY u. COLEMAN[60] hergestellte α-Acetobromprimverose verwendet.

Darstellung der α-Acetobrom-Primverose
in einer Modifikation der Methode
von McCloskey und Coleman (Abb.1)



II. Synthese von 1,3-Dihydroxy-xanthon-3-O-β-D-glucopyranosid und 1,3-Dihydroxy-xanthon-3-O-β-cellobiosid

Um den Reaktionsverlauf bei der Umsetzung der Acetobromzucker mit einem mehrfach hydroxilierten Xanthon kennenzulernen, haben wir zunächst versucht, einfache, nicht natürlich vorkommende Xanthon-O-glykoside darzustellen. Wir wählten zur Umsetzung das 1,3-Dihydroxy-xanthon und α-Acetobromglucose.

Es lag nahe, die aus der Flavonchemie gesammelten Erfahrungen auch auf Xanthone anzuwenden, da anzunehmen war, daß die Reaktivität der C-1 OH-Gruppe in etwa jener der C-5 OH-Gruppe bei Flavonen und die Hydroxylgruppe am C-3 jener bei Flavonen am C-7 entsprechen würde. Demnach sollte eine Hydroxylgruppe am C-1, in unmittelbarer Nachbarschaft zu einer Carbonylfunktion, wegen Chelatbildung weniger reaktionsfreudig sein. Eine Hydroxylgruppe am C-3 dagegen sollte infolge konjugierter Doppelbindungen die Eigenschaften einer vinylogen Säure besitzen und daher stärker nukleophil sein, so daß sie für eine selektive Glykosidierung ohne vorherige Kaschierung der C-1 OH-Gruppe in der einfachen Form einer Königs-Knorr-Synthese[42] zugänglich sein sollte.

1,3-Dihydroxy-xanthon wurde aus Phloroglucin und Salicylsäure in Gegenwart von Zinkchlorid und Phosphoroxitrichlorid nach einer Vorschrift von GROVER, SHAH u. SHAH[63] in 49%iger Ausbeute synthetisiert. Diese Methode, die im wesentlichen auf einer Friedel-Crafts-Acylierung basiert, dürfte allgemein zur Darstellung von Polyhydroxy-xanthonen geeignet sein.

Die Glykosidierung erfolgte mit einer 1,2-molaren Menge α-Acetobromglucose, die wir nach BARCZAI, MATOS u. KÖRÖSY[53] hergestellt hatten. Wir erhielten ein Umsetzungsprodukt, das aus Alkohol in feinen, gelben Nadeln mit einem Schmelzpunkt von 178 - 179°C kristallisierte. In Analogie zur Glykosidierung entsprechender Flavonoide, war die Kupplung ausschließlich am C-3 OH erfolgt. Die Ausbeute des Kondensationsproduktes (II) betrug 58% d.Th..

Entacetylierung mit Natriummethylat in Methanol[64] in bekannter Weise führte zum freien Xanthon-O-glykosid (IV).

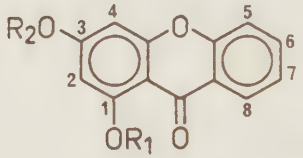


Abb. 2

I = R_1 = H, R_2 = H
II = R_1 = H, R_2 = tetra-O-acetyl-β-D-glucosyl
III = R_1 = Ac, R_2 = tetra-O-acetyl-β-D-glucosyl
IV = R_1 = H, R_2 = β-D-glucosyl

Die gemessenen negativen optischen Drehwerte für das Kupplungsprodukt (II) $[\alpha]_D^{25} = -49.7^\circ$ und für das freie Glucosid (I) $[\alpha]_D^{25} = -54.7^\circ$ wiesen auf eine β-Verknüpfung zwischen Aglykon und Zucker hin. Eine Bestätigung ergab das H-NMR-Spektrum des freien Glucosids in DMSO-d_6: Bei δ = 5.2 ppm trat das H-1' Signal als breites Dublett mit einer Kopplungskonstante von J = 7 Hz auf. Das H-NMR-Spektrum (Abb. 3, S. 19) des Kupplungsproduktes (II) zeigte ein deutliches Signal im "off-set"-Bereich (δ = 12.93 ppm). Damit war der Beweis für eine freie OH-Gruppe am C-1 und die erfolgte Kupplung am C-3-Hydroxyl geliefert.

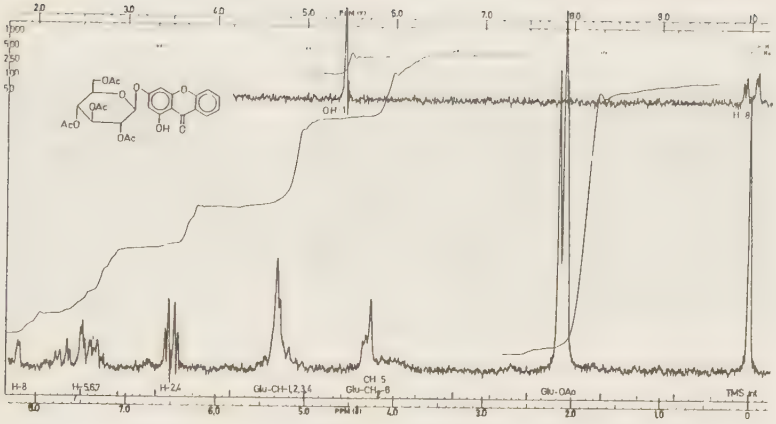


Abb. 3

H-NMR-Spektrum von 1,3-Dihydroxy-xanthon-3-O-β-D-(2,3,4,6-tetra-acetyl)-glucopyranosid

Zur Darstellung eines Biosids haben wir das gleiche Aglykon mit α-Acetobromcellobiose, hergestellt in Anlehnung an eine Vorschrift von BRAUNS[56], zu 1,3-Dihydroxy-xanthon-3-O-β-cellobiosid (V) gekuppelt. Die Ausbeute des entacetylierten Produktes betrug diesmal sogar 80% d.Th. !

Die positive $FeCl_3$-Reaktion (blau-grau) und ein charakteristisches Signal bei δ = 12.8 ppm bestätigten auch hier wieder die freie OH-Gruppe am C-1.

Auch von diesem Glykosid ließ sich in bekannter Weise ein Vollacetat, das 1-O-Acetyl-3-O-β-(hepta-O-acetyl-cellobiosyl)-xanthon (VI), herstellen.

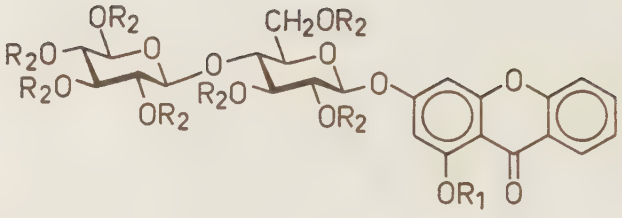


Abb. 4

V = R_1 = H, R_2 = Ac
VI = R_1 = Ac, R_2 = Ac
VII = R_1 = H, R_2 = H

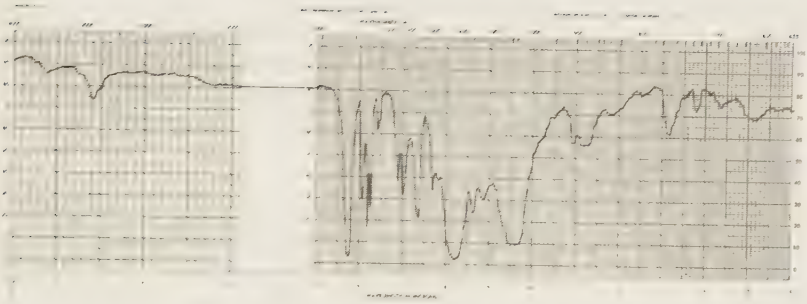


Abb. 5

IR-Spektrum von 1,3-Dihydroxy-xanthon-3-O-β-D-glucopyranosid

Die IR-Spektren beider Verbindungen zeigen die für Aromaten typischen Valenzschwingungsbanden im Bereich um 3000 cm^{-1}, sowie die für aromatische Ringsysteme oder polycyclische Verbindungen oft charakteristisch aufgegliederten Banden im Bereich von 1550 - 1650 cm^{-1}. Die Ketonbande des freien Glykosids (Abb. 5) erscheint wegen der Wasserstoffbrückenbindung der aromatischen OH-Gruppe mit einer Carbonylgruppe gegenüber der des Acetats um 40 - 60 cm^{-1} zu niedrigeren Wellenlängen verschoben.

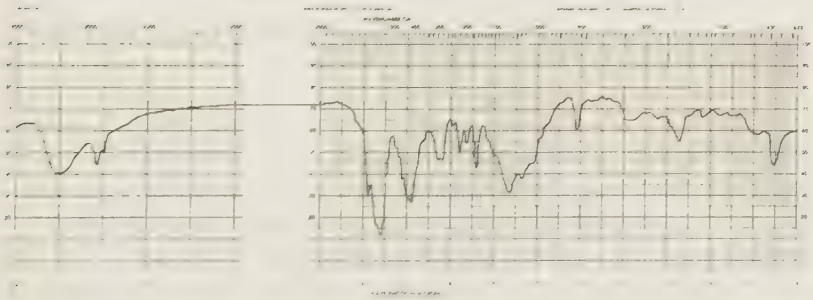


Abb. 6

IR-Spektrum von 1,3-Dihydroxy-xanthon-3-O-β-cellobiose-heptaacetat

III. Synthese von 1,3-Dihydroxy-7-methoxy-xanthon-3-O-β-D-glucopyranosid (Isogentisin-3-O-glucosid)

Für eine weitere Umsetzung mit Acetobromzuckern bot sich das natürlich in Gentianaceen vorkommende und erstmals aus Gentiana lutea isolierte[7,68] Isogentisin, ein 1,3-Dihydroxy-7-methoxy-xanthon, an.

Wir synthetisierten zunächst das nicht natürlich vorkommende 3-O-Glucosid, da in Arbeiten von SUZUKI[69] am Anfang einer pharmakologischen Testreihe für das Isogentisin eine starke Wirkung auf das ZNS festgestellt werden konnte.

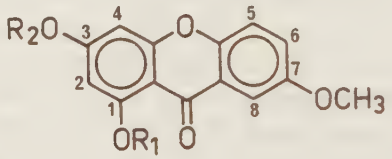


Abb. 7

VIII = R_1 = H, R_2 = tetra-O-acetyl-β-D-glucosyl
IX = R_1 = H, R_2 = β-D-glucosyl
X = R_1 = Ac, R_2 = tetra-O-acetyl-β-D-glucosyl

Wir stellten wiederum nach der Vorschrift von GROVER, SHAH u. SHAH[63] das 1,3-Dihydroxy-xanthon aus Phloroglucin und 2-Hydroxy-5-methoxy-benzoesäure dar und kuppelten anschliessend mit α-Acetombromglucose zum 1,3-Dihydroxy-7-methoxy-xanthon-3-O-β-D-glucopyranosetetraacetat[70] (VIII).
Die Ausbeuten lagen bei 37% d.Th.. Durch Verseifen konnte das Glykosid (IX) in nahezu quantitativer Ausbeute erhalten werden. Das Vollacetat (X) ließ sich ebenfalls problemlos mit Acetanhydrid/Natriumacetat in 85%iger Ausbeute gewinnen.

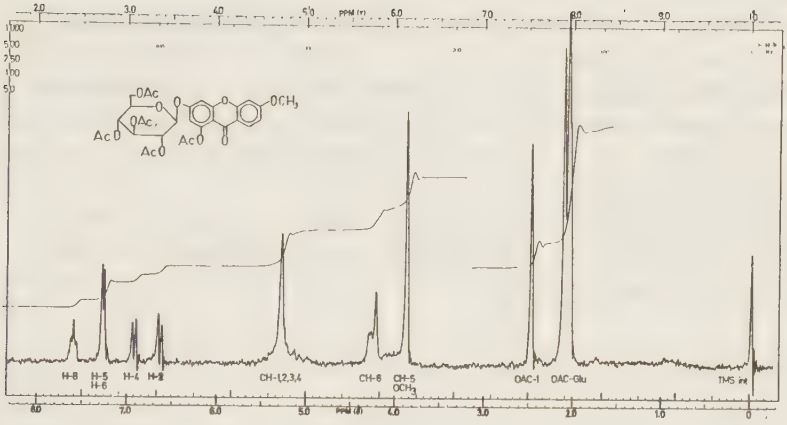


Abb. 8
H-NMR-Spektrum von Isogentisin-3-O-glucose-pentaacetat

Die Absicherung der Struktur ergibt sich auch aus dem Massenspektrum. So zeigen Hydroxy- und Methoxyxanthone sehr intensive Molekülpeaks und einige charakteristische Abspaltungen, wie z.B. CO, H_2O und CH_3[65]. LOCKSLEY u. Mitarb.[66] haben andererseits gezeigt, daß das Dibenzo-γ-pyron-Ringsystem besonders stabil ist und keiner RDA-Spaltung unterliegt.

Die Massenspektren der Glykosid-Permethyläther und Glykosid-Peracetate liefern durch charakteristische Fragmentierungen Hinweise auf Art und Verknüpfung des Zuckers. Nach den Ergebnissen von HOSTETTMANN u. Mitarb.[67] kann mit Hilfe des Molekülpeaks sogar zwischen verschiedenen Substitutionsmustern unterschieden werden.

Auch wir fanden bei den von uns synthetisierten Xanthon-O-glykosiden deutliche Intensitätsunterschiede in den Molekülpeaks von 3-O- und 1-O-Glykosiden. Alle Permethyläther von 3-O-Glykosiden lieferten ausgeprägte Molekülpeaks mit Intensitäten bis zu 30% bezogen auf den A+H-Peak. Der Molekülpeak der 1-O-Glykoside dagegen ist verschwindend klein (rel. Int. $< 1\%$) oder fehlt ganz.

Vergleicht man damit die Massenspektren der 3-O-Glykoside (Tab. 2), so findet man immer einen ausgeprägten A+H-Peak, den wir als Bezugspeak (rel.Int. = 100%) setzten. Im Gegensatz zu den weniger stabilen 1-O-Glykosiden, bei denen der A+H-Peak immer auch der stärkste Peak im Spektrum (Base-Peak) ist, findet man bei den 3-O-Glykosiden häufig andere Bruchstücke mit relativ hohen Intensitäten.
Charakteristisch für Hexopyranoside ist die Sequenz 218 → 187 → 155 → 111, wobei meistens das Fragment 218 den Base-Peak bildet (Abb. 9).

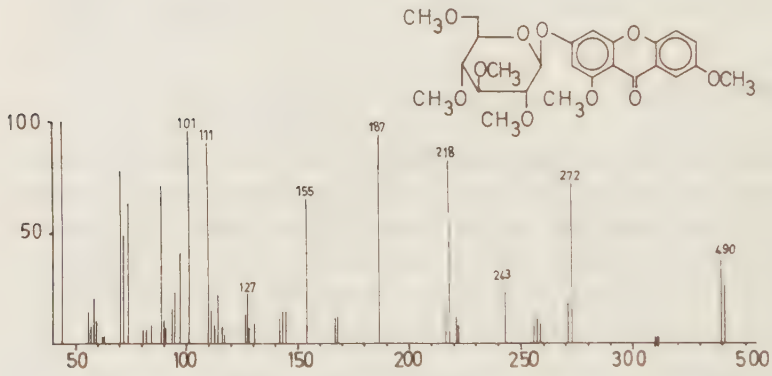


Abb. 9
MS von Isogentisin-3-O-glucosid-PMÄ

T a b e l l e 2

	M^+	A+H	A+H-29	T	D
1,3-Dihydroxy-xanthon-3-O-glucosid PMA	460(12)	242(100)	213(36)	218(85)	
1,3-Dihydroxy-xanthon-3-O-cellobiosid PMÄ	664(4)	242(100)	213(27)	218(142)	422(6)
Isogentisin-3-O-glucosid PMÄ	490(30)	272(100)	243(41)	218(112)	

M^+ = Molekülpeak; A = Aglykon; T = Terminaler Zucker;
D = Disaccharidanteil

IV. Synthese und Strukturbeweis von 1,3-Dihydroxy-7-methoxy-xanthon-3-O-β-primverosid (Gentiosid)

Im Jahre 1955 berichteten CANONICA u. PELIZZONI[7] über die Isolierung eines neuen Xanthonglykosids aus Gentiana lutea L., dem sie den Namen Gentiosid gaben.

Auf Grund des UV-Spektrums, saurer Hydrolyse und dargestellten Derivaten, schlugen die Autoren für das Gentiosid die Struktur eines 1,3-Dihydroxy-7-methoxy-xanthon-3-O-β-primverosides vor.

Im Jahre 1973 isolierten BELLMANN u. JACOT-GUILLARMOD [12] im Rahmen einer phytochemischen Studie in der Gattung Gentiana neben anderen Polyphenolheterosiden das gleiche Primverosid aus Gentiana lutea. BELLMANN u. JACOT-GUILLARMOD konnten mit Hilfe der H-NMR-Spektroskopie die Grundstruktur des Xanthons bestätigen. Da eine freie OH-Gruppe am C-1 sowohl im H-NMR-Spektrum (δ = 12.97), als auch durch die charakteristische bathochrome Verschiebung der UV-Maxima nach Behandlung mit Aluminiumchlorid (Tab. 4) einwandfrei nachgewiesen werden konnte, mußte der Zucker an der C-3 OH-Stelle verknüpft sein.
Die Vermutung, daß es sich bei dem Disaccharid um Primverose, eine 6-O-β-D-Xylopyranosyl-β-D-glucopyranose handeln könnte, war naheliegend. Ein Strukturbeweis z.B. durch Permethylierung und anschließende GC- und MS-Analyse der partiell methylierten Zucker ist bisher jedoch nicht erbracht worden.

T a b e l l e 4

UV λ [nm]	Gentiosid
EtOH	371, 303, 260, 236
NaOAc	371, 303, 260, 236
$AlCl_3$	426, 325, 317, 275, 232

Obwohl Primverose das häufigste natürlich vorkommende Xyloglucosid ist, gibt es auch einige Flavonoidglykoside und Anthocyanine[71] , in denen die β 1 ⟶ 2 verknüpfte Sambubiose vorliegt.

Zum endgültigen Strukturbeweis synthetisierten wir deshalb Gentiosid aus Isogentisin und α-Acetobromprimverose in der oben beschriebenen Weise.
Zur Entfernung nicht umgesetzten Aglykons wurde das Reaktionsgemisch mit Chloroform und wässriger Natriumcarbonatlösung (10%) behandelt, anschließend mit Hilfe der präparativen Dickschichtchromatographie (Kieselgel, LM TÄ 3:1) gereinigt und anschließend mit Äthanol unter einem geringen Zusatz von Äther umkristallisiert.

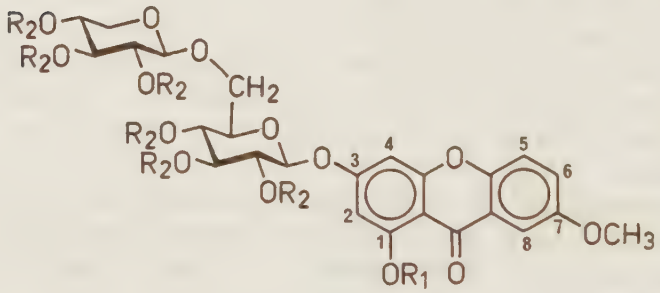


Abb. 10

XI = R_1 = H, R_2 = H
XII = R_1 = H, R_2 = Ac
XIII = R_1 = Ac, R_2 = Ac

Das nach Verseifung erhaltene Glykosid XI schmolz bei 266 - 267°C und gab mit der natürlichen Verbindung im Mischschmelzpunkt keine Depression. Die UV-, IR- und NMR-Spektren von isolierter und synthetisierter Substanz waren deckungsgleich.

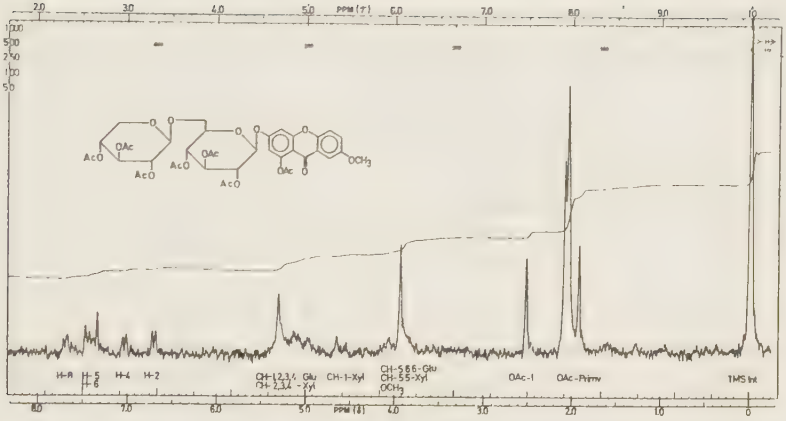


Abb. 11
H-NMR-Spektrum von Gentiosid (Acetat)

Ein in DMSO-d_6 aufgenommenes ^{13}C-Spektrum stimmte in den δ-Werten mit einem kürzlich von HOSTETTMANN u. NAKANISHI[72)] aufgenommenen Spektrum des isolierten Gentiosids überein (Tab. 5, S. 28).

T a b e l l e 5

^{13}C-Spektrum von isol. und synth. 1,3-Dihydroxy-7-methoxy-xanthon-3-O-β-primverosid (Gentiosid), gemessen in DMSO-d_6 (δ-Werte)

	isoliert	synthetisch
C-1	162.3	162.1
C-2	98.8	98.5
C-3	164.3	164.1
C-4	94.6	94.5
C-4 a	157.2	156.9
C-4 b	103.6	103.4
C-5	119.4	119.3
C-6	124.7	124.5
C-7	155.9	155.8
C-8	105.5	105.6
C-8 a	120.2	120.1
C-8 b	150.2	150.1
C=O	180.8	180.7
OMe	55.8	55.6

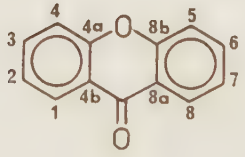


Abb. 12

Die quartären C-Atome C-8 b und C-7 (Abb. 12, S. 28) können durch den am C-7 stärker auftretenden "Kern-Overhouser-Effekt" (NOE) unterschieden werden, während die C-Atome 4 b und 8 a von den anderen quartären C-Atomen durch ihre deutlichen chemischen Verschiebungen differenziert werden können.

Der Wert δ = 180.7 ppm ist bezeichnend für die monochelierte (1-OH) Carbonylgruppe. Doppelte Chelierung (1,8-di-OH) würde die C=O-Gruppe bei etwas tieferem Feld (ca. 184 ppm) erscheinen lassen.

T a b e l l e 6

Gefundene δ-Werte für Primverose, gemessen in DMSO-d_6

	Glucose	β-Methylglucose*)
C-1'	102.0	103.4
C-2'	73.5	73.4
C-3'	76.7	75.2
C-4'	70.5	70.0
C-5'	75.8	75.2
C-6'	66.5	61.4
	Xylose	β-Methylxylose*)
C-1"	102.4	103.8
C-2"	73.7	72.7
C-3"	75.9	75.7
C-4"	69.4	69.3
C-5"	65.5	64.7

*) gemessen in H_2O

Die Glykosidierung an der C-3 OH-Gruppe führt zu einer Verringerung des δ-Wertes um ca. 1.4 ppm, während die chemische Verschiebung des o-ständigen C-Atoms um ca. 0.8 ppm und die des p-ständigen C-Atoms um ca. 1.5 ppm erhöht wird.

Vergleicht man die Werte der Primverose mit denen der β-Methylglucose und β-Methylxylose, so sieht man, daß die chemischen Verschiebungen der C-Atome des Disaccharids nicht wesentlich verändert sind, mit Ausnahme von C-6', das anstelle von δ = 61.4 ppm jetzt bei δ = 66.5 ppm nach tieferem Feld verschoben liegt.

Xanthon-1-O-glykoside

Nach den bisher durchgeführten systematischen Untersuchungen kommen Xanthon-1-O-glykoside häufiger in der Natur vor als Xanthon-3-O-glykoside[30]. Dies trifft vor allem für die Xanthonglykoside in Swertia- und Gentiana-Arten zu. Als Zuckerkomponenten wurden in dieser Position nur Glucose und Primverose gefunden.

Die Hydroxylgruppe am C-1 entspricht bei Flavonoidglykosiden der C-5 OH-Gruppe. Auch die Zahl von natürlich vorkommenden 5-O-Glykosiden ist gering. Eine Ursache dürfte die starke Wasserstoffbrückenbildung bzw. die geringe Acidität dieser OH-Gruppe sein. Dementsprechend ist die Glykosidierung dieser Gruppe auch stark behindert. Bisher wurde nur einmal ein 5-O-Glykosid von FARKAS, VERMES u. NOGRADI[73] synthetisiert. Ausgehend von 5-Hydroxy-3,7,3',4'-tetra-benzyloxy-flavon erhielten FARKAS u. Mitarb. unter Anwendung eines Überschusses an α-Acetobromglucose in Gegenwart von Pyridin und Silbercarbonat das Quercetin-5-O-β-D-glucopyranosid.
Die Ausbeute betrug allerdings weniger als 10%.

Wir versuchten zunächst wieder ein "Modell-glykosid" zu synthetisieren und wählten als Kupplungspartner das Disaccharid α-Acetobromcellobiose.

I. Synthese von 1-Hydroxy-3-methoxy-xanthon-1-O-β-cellobiosid

1,3-Dihydroxy-xanthon, das wie oben beschrieben, aus Phloroglucin und Salicylsäure nach der Methode von GROVER, SHAH u. SHAH[63] hergestellt wurde, mußte zunächst selektiv am C-3 OH methyliert werden.
Als Methylierungsreagens wählten wir Dimethylsulfat, da es sich gegenüber dem agressiveren Diazomethan und dem leicht flüchtigen und somit schwer regulierbaren Methyljodid für eine partielle Methylierung am zweckmäßigsten erwies.

Die Substanz wurde in trockenem Aceton gelöst und in Gegenwart von frisch geglühtem Kaliumcarbonat mit einer genau

bemessenen 1-molaren Menge Dimethylsulfat selektiv methyliert. Aus Äthanol/Methanol erhielten wir gelb gefärbte Kristalle mit einem Schmelzpunkt von 247°C. Die selektiv am C-3 OH erfolgte Methylierung wurde durch den höheren R_f-Wert (R_f = 0.82; LM TA 1:1) im Vergleich zur Ausgangssubstanz (R_f = 0.33) und durch die positiv ausfallende $FeCl_3$-Reaktion bestätigt.

Die geringe Reaktivität des C-1 Hydroxyls erfordert zur Glykosidierung einen Überschuß an α-Halogenzucker. Nach zahlreichen Versuchen fanden wir, daß ähnlich der Quercetin-5-O-glykosid-Synthese ein Überschuß von 2 - 5 Mol an Halogenzucker notwendig war. Dabei mußte die gesamte Zuckermenge in einem bestimmten Rhythmus zugegeben werden. Zuerst wurde das Aglykon in Pyridin gelöst und mit einem Trocknungsmittel (Sikkon^R) 30 Min. lang gerührt. Anschließend tropfte man etwa 1/3 der berechneten Gesamtmenge an Halogenzucker in Pyridin gelöst, zum Reaktionsgemisch. kurz darauf gaben wir die entsprechende Menge Silbercarbonat hinzu und rührten weitere 2 - 4 Stdn. unter Ausschluß von Licht und Feuchtigkeit. Im Abstand von jeweils einer Stunde wurde die restliche Menge Halogenzucker hinzugetropft und das Ganze bis zu 50 Stdn. weitergerührt.

Einmalige Zugabe eines großen Überschusses an α-Halogenzucker führte zu wesentlich schlechteren Ausbeuten. Vermutlich tritt nach kurzer Zeit eine starke Konkurrenzreaktion des Zuckers mit Silbercarbonat ein, so daß nicht mehr genügend Zucker für eine ausreichende Glykosidierung zur Verfügung steht.

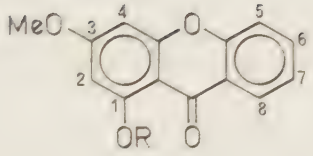


Abb. 13

XIV = R = hepta-O-acetyl-β-cellobiosyl
XV = R = β-cellobiosyl

Nach sorgfältiger Aufarbeitung wurde nicht umgesetztes Aglykon durch Ausschütteln mit 30%iger Natriumhydrogencarbonatlösung entfernt. Zur Beseitigung anderer Verunreinigungen wurde zunächst über Kieselgel filtriert (LM TÄ 1:1). Anschließende präparative Dickschichtchromatographie und Umkristallisieren mit Chloroform/n-Hexan lieferte ein exakt bei 236°C schmelzendes Produkt.

Beweisend für die vollständig erfolgte Glykosidierung waren der negative Ausfall der Eisen-III-chlorid-Reaktion und das Fehlen des charakteristischen Singuletts bei ca. 12.8 ppm für das C-1 Hydroxyl.

Trotz der geringen Reaktivität des C-1 Hydroxyls erreichten wir Ausbeuten bis zu ca. 25% d.Th.. Damit ist gezeigt, daß die konventionelle Konigs-Knorr-Reaktion auch zur Synthese von Xanthon-1-O-glykosiden geeignet ist.

II. Synthese von 1,3-Dihydroxy-5-methoxy-xanthon-1-O-β-D-glucopyranosid

GHOSAL, BISWAS u. CHAUDHURI[74] haben im Jahre 1977 aus Canscora decussata Schult. (Gentianaceen) neben drei freien Xanthonen zwei neue Xanthonglykoside isoliert.

Für eines der Glykoside schlugen sie die Struktur eines 1,3-Dihydroxy-5-methoxy-xanthon-1-O-β-D-glucopyranosids vor.

Zur Darstellung des Xanthons wählten wir folgenden Syntheseweg:

o-Vanillin wurde mit Hilfe einer Alkalischmelze zu o-Vanillinsäure (XVI) oxidiert und anschließend mit Phloroglucin, in Gegenwart von Phosphoroxitrichlorid und frisch geschmolzenem Zinkchlorid nach der Methode von GROVER, SHAH u. SHAH[63] zu 1,3-Dihydroxy-5-methoxy-xanthon (XVII) umgesetzt. Vor der Reaktion mit dem Acetobromzucker mußte die C-3 OH-Gruppe partiell kaschiert werden. Als geeignete Schutzgruppe hatte sich besonders die Benzylgruppe bewährt, da sie unter den Bedingungen der Königs-Knorr-Synthese hinreichend stabil war und nach der Glykosidierung schonend durch katalytische Hydrierung wieder abgespalten werden konnte. Hinderlich für die Umsetzung war die schlechte Löslichkeit von 1,3-Dihydroxy-5-methoxy-xanthon in Aceton. Deshalb acetylierten wir die Ausgangssubstanz zunächst mit Essigsäureanhydrid unter Zusatz von wenig Schwefelsäure zum 1,3-Diacetoxy-5-methoxy-xanthon (XVIII). Das Aglykon wurde dadurch gut in Aceton löslich und konnte quantitativ benzyliert werden. Als Benzylierungsreagens wählten wir Benzylchlorid in Gegenwart von Kaliumcarbonat und etwas Kaliumjodid.

Zur Reinigung des Benzyläthers (XIX) führten wir anschliessend eine Wasserdampfdestillation durch, kristallisierten den ausgefallenen Niederschlag aus Äthanol und kuppelten mit α-Acetobromglucose zum 1-Hydroxy-3-benzyloxy-5-methoxy-xanthon-1-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)-β-D-glucopyranosid (XX).

Anschließend reinigten wir das Kupplungsprodukt über Kieselgel mit dem Laufmittel Toluol/Äthylacetat 1:1 und kristallisierten aus Aceton/Äther um. Die Ausbeute betrug 22% d.Th..

Die Abspaltung der Benzylgruppe erreichten wir durch 4stündige Hydrierung mit Pd/C als Katalysator. Das so erhaltene 1,3-Dihydroxy-5-methoxy-xanthon-1-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)-β-D-glucopyranosid (XXI) konnte aus Äthanol in Form hellgelber Nadeln mit einem Schmelzpunkt von 210 - 212°C erhalten werden. Die Verbindung war ohne Änderung der physikalischen Daten über längere Zeit stabil.

Völlig verschieden davon verhielt sich das freie Glykosid (XXII). Die Substanz zersetzte sich innerhalb weniger Tage. Eine Kristallisation war nur bedingt möglich. Es entstanden zwar zunächst hellgelb gefärbte Kristalle, die sich aber schon nach kurzer Zeit stark verfärbten. Auf der DC-Platte konnten wir schließlich 15 - 20 Flecke, verteilt über den gesamten R_f-Bereich nachweisen. Es war nahezu völlige Zersetzung eingetreten.

Das von Professor Ghosal zur Verfügung gestellte natürliche Glykosid war bei Ankunft ölig zersetzt und zeigte ein ähnliches Chromatogrammbild.

Diese extreme Instabilität des freien Glykosids ist aus dem Substitutionsmuster schwer erklärbar. Bekanntlich neigen nur phenolische Verbindungen mit einer o- oder p-Dihydroxygruppierung zur Bildung von Chinonen und damit zur Autoxidation. Das Vollacetat (XXIII) konnte hingegen problemlos aus Äthanol kristallisiert werden (Smp. 162°C). Es veränderte sich weder in Lösung noch in getrocknetem Zustand.

T a b e l l e 7

	natürliches Glykosid (Lit. 74))	synthetisches Glykosid
Smp. freies Glykosid	210 - 212°C	211 - 212°C
Smp. Vollacetat	158 - 161°C	161 - 162°C
R_f-Wert fr.Glykosid		
LM: BEW,ÄMW	0.72 0.52	0.72 0.52
und PÄW	0.76	0.76
R_f-W.Acetat,LM:TÄ 1:1	0.49	0.49
UV fr.Glykosid λ [nm] MeOH	248, 310	245, 308

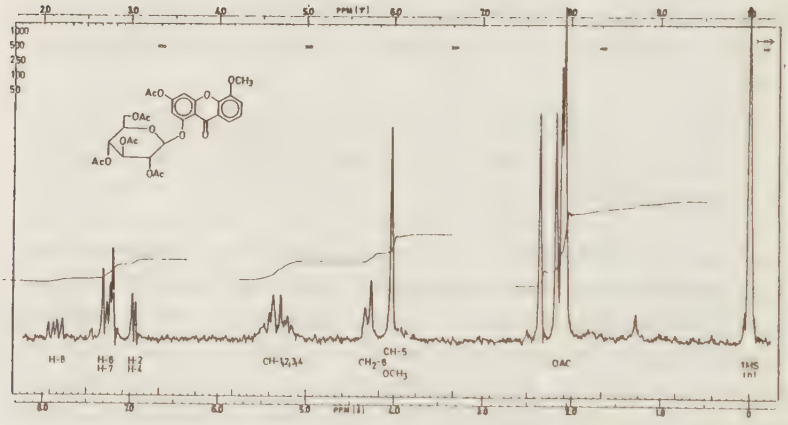


Abb. 14

H-NMR-Spektrum von 1,3-Dihydroxy-5-methoxy-xanthon-1-O-β-D-glucopyranose-pentaacetat

Die relativ große Instabilität der Xanthon-1-O-glykoside im Vergleich zu den 3-O-Glykosiden ist aus dem Massenspektrum (Abb. 15) abzulesen. Ähnlich wie in den Spektren der Flavonol-3-O- und Flavonol-3-O-glykoside[65] tritt der Molekülpeak M^+ nicht oder nur schwach in Erscheinung (rel. Int. < 1%).

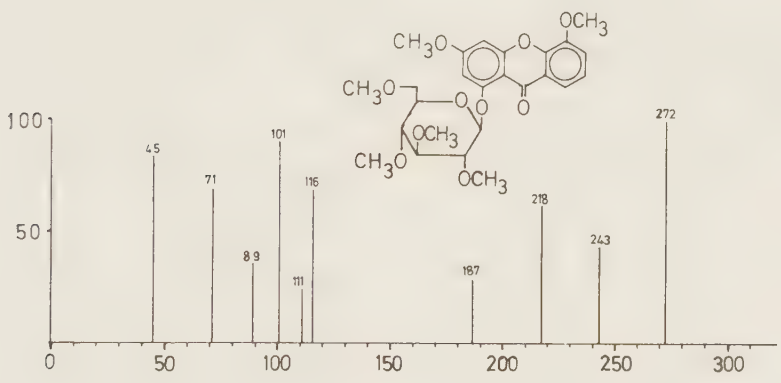


Abb. 15
MS von 1,3-Dihydroxy-5-methoxy-xanthon-1-O-β-D-glucopyranosid-PMÄ

Wie bei den Xanthon-3-O-glykosiden tritt auch bei diesem 1-O-Glykosid wieder ein ausgeprägter A+H-Peak auf, der bei 1-O-Glykosiden zugleich immer der Base-Peak ist.

Die Fragmentierungen A+H - 43 ($\hat{=}$ CH_3-CO) und A+H - 43 - 29 ($\hat{=}$ O=CH), die im Spektrum des Peracetats gut erkennbar sind (Tab. 8, S. 38), lassen auf die Anzahl der Hydroxylgruppen im Molekül schließen und sind zugleich besonders charakteristisch für das Dibenzo-γ-pyron-Ringsystem.

T a b e l l e 8

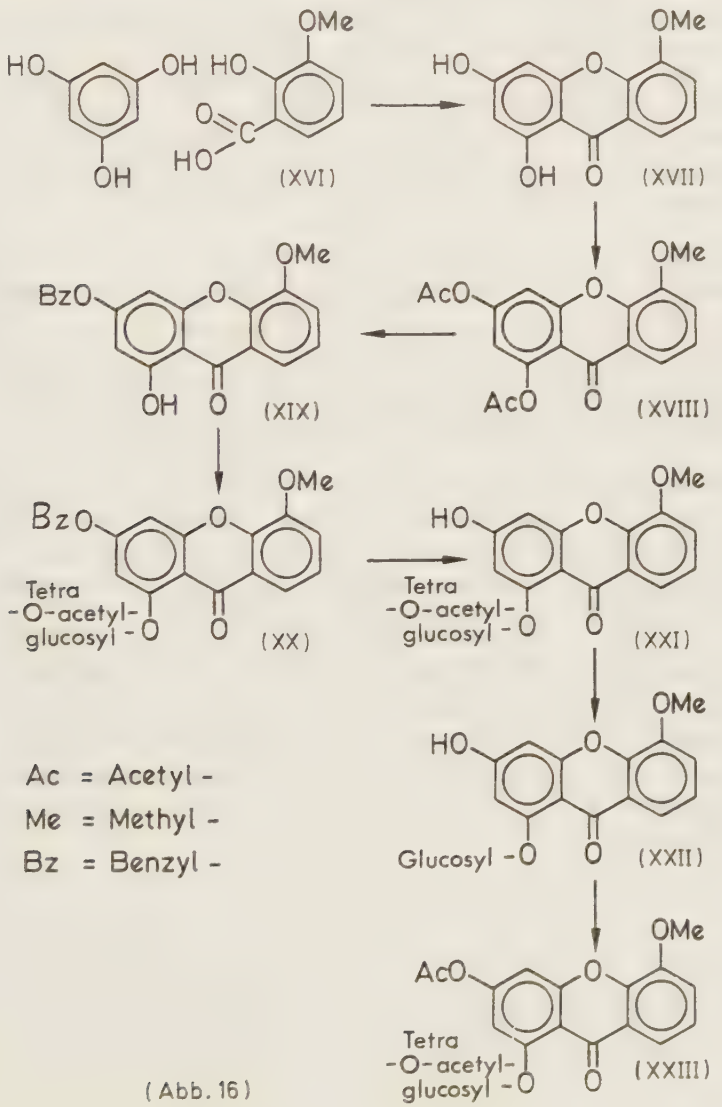
1,3-Dihydroxy-5-methoxy-xanthon-1-O-β-D-glucopyranosid (PA)
m/e (rel. Int. %)

M^+	A+H	A+H-29	T
-	300(100)	271(27)	331(50)

A+H-42	A+H-43	A+H-42-29	A+H-43-29
258(95)	257(45)	229(78)	228(50)

Synthese von :

1.3-Dihydroxy-5-methoxy-xanthon-1-O-ß-D-glucopyranosid



(Abb. 16)

III. Synthese von 1-Hydroxy-3,7,8-trimethoxy-xanthon-1-O-β-primverosid

Im Jahre 1969 isolierten RIVAILLE u. RAULAIS aus den Blättern von Gentiana verna L. das 1-Hydroxy-3,7,8-trimethoxy-xanthon-1-O-β-primverosid (Decussatin-1-O-primverosid)[28].

Drei Jahre später wurde von CARBONNIER u. Mitarb. dasselbe Glykosid aus Gentiana ciliata und Gentiana clusii isoliert[26]. Die genannten Autoren konnten die Substanz jedoch nicht kristallisieren und strukturell völlig aufklären.

Die endgültige Strukturaufklärung erfolgte erst 1974 durch HOSTETTMANN u. JACOT-GUILLARMOD im Rahmen einer Untersuchungsreihe, bei der auch mehrere Glykoside 4-fach substituierter Xanthone, unter ihnen das 1-Hydroxy-3,7,8-trimethoxy-xanthon-1-O-β-primverosid, aus den Blättern von Gentiana bavarica L.[21] und Gentiana verna L.[22] isoliert worden waren.

Anhand von UV-Verschiebungsspektren konnte bewiesen werden, daß keine freie phenolische OH-Gruppe vorhanden war. Permethylierung und saure Hydrolyse ergab Glucose, Xylose und 1-Hydroxy-3,7,8-trimethoxy-xanthon. Es mußte sich somit um ein 1-O-Glykosid mit dem Zuckeranteil Primverose handeln.

Zum endgültigen Strukturbeweis haben wir das Aglykon Decussatin, das uns von Dr. Hostettmann freundlicherweise zur Verfügung gestellt worden war, mit α-Acetobromprimverose in analoger Weise, wie bei 1-Hydroxy-3-methoxy-xanthon-1-O-β-cellobiosid beschrieben, glykosidiert und mit dem Naturprodukt verglichen.

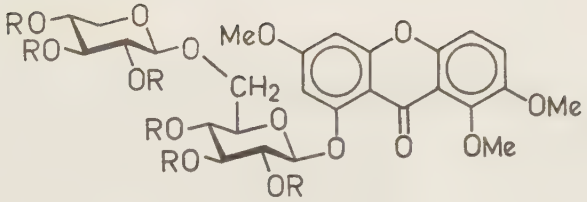


Abb. 17

XXIV = R = H
XXV = R = Ac

Der Mischschmelzpunkt der beiden Glykoside (XXIV) zeigte keine Depression und lag bei 192 - 193°C. Auch die R_f-Werte in verschiedenen Laufmitteln (Tab. 9), sowie UV- und IR-Spektren zeigten völlige Übereinstimmung.

T a b e l l e 9

	isol. Glykosid (Lit.[21,22])	synth.Glykosid
Smp.	192 - 193°C	192 - 193°C
R_f-Werte		
1. Kieselgel/ÄMW	0.39	0.39
2. Polyamid /MWE	0.92	0.93
UV λ [nm]	242, 250	244, 251
MeOH	304, 355	302, 355

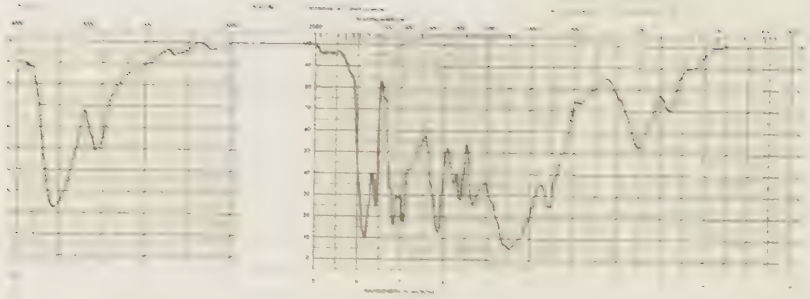


Abb. 18
IR-Spektrum des isol. Glykosids

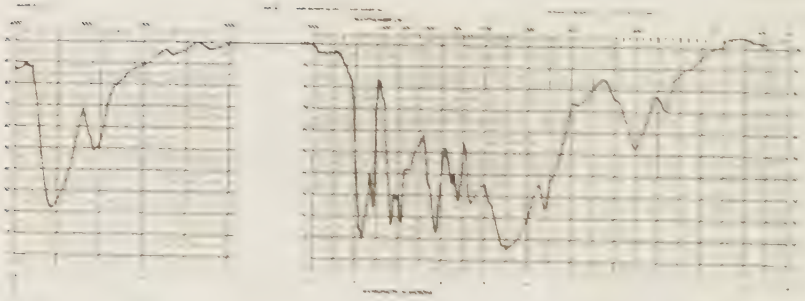


Abb. 19
IR-Spektrum des synth. Glykosids

Das H-NMR-Spektrum des Acetats (XXV) zeigte sechs aliphatische Acetatgruppen zwischen δ = 7.8 und 8.1 ppm und 21 Protonen zwischen δ = 4.5 und 6.7 ppm, darunter 3 Singulette bei δ = 6.08, 6.13 und 6.15 ppm für die drei aromatischen Methoxygruppen.

IV. Synthese von 1,7-Dihydroxy-3,8-dimethoxy-xanthon-1-O-β-primverosid

HOSTETTMANN u. JACOT-GUILLARMOD isolierten 1974 aus Gentiana verna L.[22] und 1977 aus Gentiana nivalis[23] das Gentiacaulein-1-O-primverosid, dem sie die Struktur eines 1-O-β-Primverosyl-7-hydroxy-3,8-dimethoxy-xanthons zuschrieben.

Zum endgültigen Strukturbeweis wurde von Dr. Hostettmann zur Verfügung gestelltes, 1,7-Dihydroxy-3,8-dimethoxy-xanthon mit α-Acetobromprimverose zum 1-O-Glykosid gekuppelt.

Um die Bildung eines 1-O- und 7-O-Glykosidgemisches zu vermeiden, war es notwendig, die C-7 OH-Gruppe partiell zu kaschieren.

Als beste Methode bewährte sich die Umsetzung frisch hergestellten Borsäuretriacetats und Essigsäureanhydrids mit 1,7-Dihydroxy-3,8-dimethoxy-xanthon. Bei dieser Umsetzung war gleichzeitig am C-1 OH ein Borsäureacetat-Komplex in Form eines zitronengelb gefärbten Zwischenproduktes entstanden, der durch einfache Hydrolyse nicht zerstört werden konnte. Erst nach Zugabe von Eisessig, kräftigem Erhitzen und mehrstündigem Stehenlassen setzte sich allmählich ein weißer Niederschlag ab, der als 7-O-Monoacetat identifiziert werden konnte.

Im H-NMR-Spektrum war ein deutliches Singulett bei δ = 12.8 ppm für die freie OH-Gruppe am C-1 zu sehen. Die Eisen-III-chlorid-Reaktion fiel ebenfalls positiv aus.

Die Kupplung erfolgte wieder mit in Pyridin gelöster α-Acetobromprimverose in der für Xanthon-1-O-glykoside bereits oben beschriebenen Weise.

Das Kondensationsprodukt (XXVI) konnte aus Methanol/Äther kristallisiert werden. Der Schmelzpunkt war mit dem in der Literatur[23] angegebenen identisch und betrug 123°C.

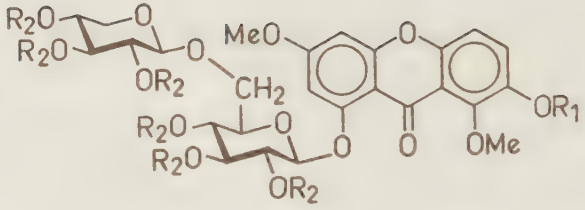


Abb. 20

XXVI	= R_1 = Ac,	R_2 = H
XXVII	= R_1 = Ac,	R_2 = Ac
XXVIII	= R_1 = H,	R_2 = H

Durch Verseifung mit Methanol/Natriummethylatlösung erhielten wir XXVIII in Form hellgelber Kristalle.

T a b e l l e 10

	isol.Glykosid (Lit.[22,23])	synth.Glykosid
Smp.	162 - 163°C	162 - 163°C
Smp. Acetat	122°C	123°C
R_f-Werte		
Kieselgel/ÄMW	0.32	0.32
Polyamid/MWE	0.85	0.85
UV-Daten		
λ[nm] MeOH	242, 253 304, 362	242, 252 303, 362

Der Mischschmelzpunkt der beiden Glykoside zeigte keine Depression und lag bei 162 - 163°C.

Auch die R_f-Werte beider Substanzen in verschiedenen Laufmitteln, ebenso wie die UV- und NMR-Spektren waren völlig identisch.

Zur Pharmakologie der Xanthon-O-glykoside

Nachdem bereits von GHOSAL u. Mitarb.[40] auf eine mögliche antidepressive Wirkung natürlich vorkommender Xanthone und Xanthon-O-glykoside hingewiesen worden war, sollte dieser Befund zunächst überprüft werden. Gegebenenfalls waren einige systematische Arbeiten mit verschiedenen Xanthonen anzuschließen.

I. Antidepressive Wirkung und Monoaminoxydase-Hemmung

Bereits GHOSAL[40] hatte auf Grund veränderter Verhaltensweise bei Ratten, wie z.B. gesteigerte Aktivität, spontane Motilität, leichtes Zittern, Potenzierung der narkotischen Wirkung von Hexobarbital usw., nach der Anwendung einer xanthonhaltigen Fraktion von Swertia purpurascens vermutet, daß die antidepressive, bzw. zentral stimulierende Wirkung möglicherweise über eine Hemmung der Monoaminoxydase (MAO) zustande kommen könnte.

Die Wirkungsmechanismen antidepressiv wirkender Verbindungen, die über eine Hemmung der MAO zustande kommen, wurden eingehend bei einer Reihe von natürlichen und synthetischen Thymeretika studiert:

Die Monoaminoxydase (MAO) ist ein Flavoprotein, dessen aktives Zentrum aus kovalent gebundenem Flavin besteht. Ihre Aufgabe ist die Katalyse der oxydativen Desaminierung, d.h. der Dehydrierung biogener Amine zu Iminen (Abb. 21, S. 47 und Abb. 22, S. 48). Durch Übertragung des Wasserstoffs auf molekularen Sauerstoff entsteht H_2O_2. Die C=N-Bindung der Imine wird leicht hydrolysiert und es werden Aldehyde und Ammoniak gebildet. Je nach Substratspezifität unterscheidet man den MAO-Typ A und Typ B. So werden 5-Hydroxytryptamin (5-HT, Serotonin) und Noradrenalin (NA) fast ausschließlich vom Typ A desaminiert, während Phenyläthylamin (PEA) nur vom Typ B abgebaut wird.

Andere Substrate, wie Tyramin und Tryptamin werden sowohl von MAO A wie auch von MAO B oxydativ desaminiert[75].

Besonders die Leber enthält große Mengen an B-Form. In den zentralen monoaminergen Neuronen hingegen ist hauptsächlich die A-Form vertreten.

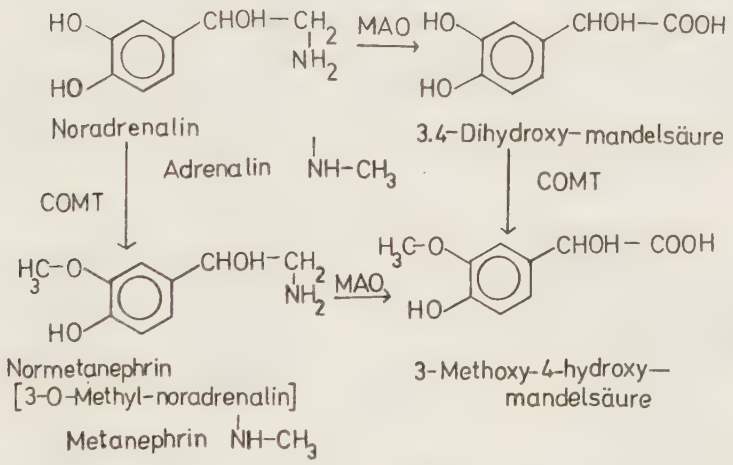


Abb. 21

Noradrenalin und Adrenalin wird durch Katecholmethyltransferase (COMT) und Monoaminoxydase abgebaut. Die COMT methyliert alle 3,4-Dihydroxy-phenyl-derivate an der phenolischen OH-Gruppe in Position 3. Die MAO desaminiert oxydativ Katecholamine und Phenyläthylamine zu inaktiven Aldehyden, die dann durch Aldehyd-Dehydrogenasen weiter zu Säuren (3,4-Dihydroxymandelsäure) oxidiert werden. Die gleichzeitig abgelaufenen enzymatischen Reaktionen inaktivieren Noradrenalin und Adrenalin zu 3-Methoxy-4-hydroxy-mandelsäure.

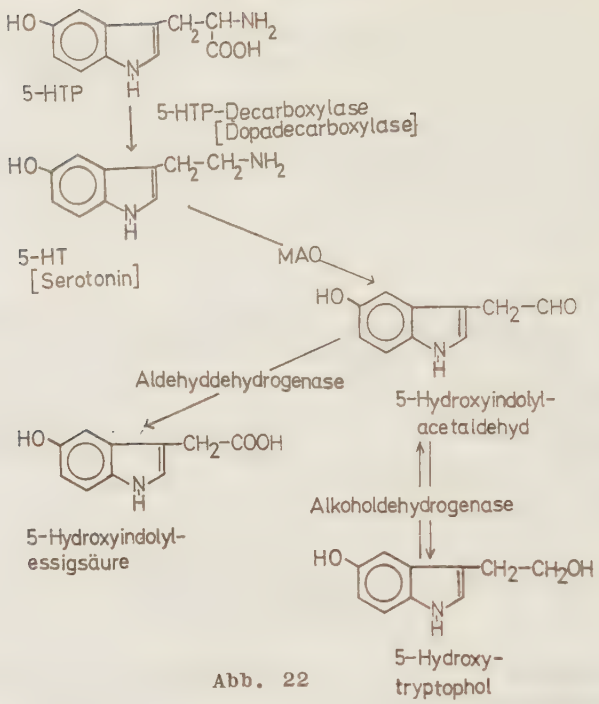


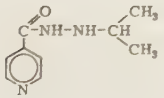
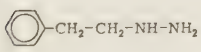
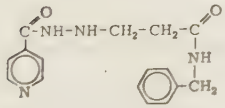
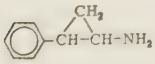
Abb. 22

Serotonin (5-HT) entsteht durch Decarboxylierung der Aminosäure 5-Hydroxy-tryptophan. Es kommt wie Histamin ubiquitär in pflanzlichen und tierischen Geweben vor. Besonders reichlich ist es in den endochromaffinen Zellen der Dünndarmschleimhaut, in Thrombozyten und in bestimmten Hirngebieten (Hypothalamus, Mittelhirn) enthalten. Durch die MAO (Typ A) wird Serotonin oxydativ zum 5-Hydroxy-indolyl-acetaldehyd desaminiert, der dann entweder durch die Aldehyddehydrogenase oder durch die Alkoholdehydrogenase weiter metabolisiert wird.

II. Verbindungen mit MAO-Hemmwirkung

Ursprünglich vermutete man[76], daß nur Verbindungen vom Hydrazintyp die Eigenschaft besäßen, MAO zu hemmen. Diese Annahme basierte auf der Beobachtung, daß depressiv verstimmte TBC-Patienten nach Verabreichung des Tuberkulostatikums Iproniazid (Marsilid^{R}) psychisch gelöster wurden. Bald behandelte man auch Patienten mit depressiven Psychosen erfolgreich mit Iproniazid. Da sich Iproniazid aber bald als zu toxisch erwies[77] (Leberfunktionsstörungen), wurden andere Präparate entwickelt, wie z.B. Nardil^{R} oder Niamid^{R} (Nialamid) und auch Verbindungen, die sich nicht vom Hydrazin ableiten, wie z.B. Tranylcypromin, das der Hauptbestandteil des Antidepressivums Jatrosom^{R} ist (Tab. 11).

Tabelle 11

Strukturformel	Internationaler Freiname	Handelspräparat (Eingetragenes Warenzeichen)
	Iproniazid	Marsilid (nicht mehr im Handel)
	Phenelzin	Nardil
	Nialamid	Niamid
	Tranyl-cypromin	Bestandteil von Jatrosom

Ähnlich den natürlichen Substraten der MAO wie Adrenalin, Noradrenalin, Tyramin und Dopa besitzen auch die Hemmstoffe der MAO als strukturelle Charakteristika ein planares π-System (Aromat) und einen "kationischen Kopf".

Eine neuere Gruppe von MAO-Hemmern sind heterocyclische meso-ionische Verbindungen, wie z.B. N-Arylsydnone[78], die einen aromatischen Ring und eine basische Funktion in Form eines Carbonylsauerstoffatoms enthalten, oder die Anhydro-1,2,3-thiadiazoliumhydroxyde[79], deren Hemmwirkung auf Wechselwirkungen zwischen dem aromatischen Ring und einem π-Elektronensystem der Enzymoberfläche, sowie zwischen dem negativ geladenen Carbonylsauerstoff und einer elektrophilen Gruppe des Enzyms beruht.

Vergleicht man die Strukturen der genannten MAO-Hemmstoffe mit denen der Xanthone, so kann man einige Gemeinsamkeiten feststellen. Auch die Xanthone besitzen das planare π-System, den "kationischen Kopf" und ähnlich den meso-ionischen Verbindungen eine Carbonylgruppe als basische Funktion (Abb. 23).

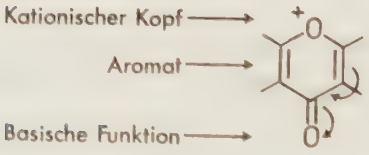


Abb. 23

Berücksichtigt man, daß es innerhalb der Antidepressiva zahlreiche tricyclische Verbindungen gibt, die auf den Monoaminstoffwechsel einwirken, so kann man die tricyclischen Xanthone im Bereich der MAO-Hemmer als eine Erweiterung zur Struktur bisher bekannter MAO-Hemmer, z.B. Iproniazid usw., die nur einen aromatischen Ring besitzen, ansehen.

Diese "3-Ring-These" in Verbindung mit ZNS-Stimulierung wird auch von VALENTI u. Mitarb.[41] vertreten. Interessanterweise wurde eine solche Wirkung auch bei den ganz ähnlich aufgebauten Acridonderivaten beobachtet. In diesem Zusammenhang kamen die italienischen Autoren zu dem Ergebnis, daß ein heterocyclisch gebundener Sauerstoff eine stärkere ZNS-Stimulierung bewirkt als eine NH-Gruppe. Eine Aminomethylseitenkette verursacht hingegen eine Verschlechterung der Wirkung. Dabei nimmt der Stimulationseffekt mit zunehmender Kettenlänge kontinuierlich ab.

Im folgenden wurden die beiden Xanthone Isogentisin und Isogentisin-3-O-glucosid auf eine eventuelle MAO-Hemmwirkung untersucht.

III. Versuchsergebnisse aus dem Laboratorium von Prof. Suzuki

Die Ermittlung der MAO-Aktivität wurde mit Kynuramin (Abb. 24), einem Substrat für MAO A und B, in einer modifizierten[79] Methode nach KRAML[80] durchgeführt. Das Enzympräparat wurde aus dem Gehirn männlicher Albino-Ratten der Spargue-Dawley-Rasse gewonnen. Die Messungen erfolgten fluorometrisch. 4-Hydroxychinolin, das aus Kynuramin durch oxidative Desaminierung entsteht, zeigt unter gewissen Versuchsbedingungen[80] ein ausgeprägtes Fluoreszenzmaximum bei 380 mμ. Eine verminderte Fluoreszenz bedeutet einen geringeren Abbau des Kynuramins und damit eine Hemmung der MAO.

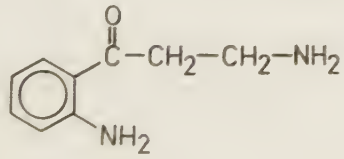


Abb. 24
Kynuramin

1. Herstellung des Enzympräparates

Das Gehirn männlicher Albino-Ratten der Spargue-Dawley-Rasse wurde in einem Potter-Elvehjem-Homogenisator in 9-Volumenfacher Zuckerlösung unter Eiskühlung homogenisiert und anschließend zur Beseitigung zellulärer Grobbestandteile 5 Min. bei 1.500 g zentrifugiert. Der resultierende Überstand wurde daraufhin 20 Min. bei 18.000 g zentrifugiert und der entstandene Bodensatz (Mitochondrien) in Zuckerlösung suspendiert.

Die Suspension wurde nochmals 30 Min. bei 18.000 g zentrifugiert. Anschließend erfolgte wieder ein Suspendieren des Bodensatzes in 0.1 molarer Natriumphosphatpufferlösung (pH 7.4). Diese Suspension diente als Enzymlieferant.

2. Durchführung der Versuche

Das Versuchsgemisch wurde 10 Min. mit Isogentisin bzw. Isogentisin-3-O-glucosid bei einer Temperatur von 37°C vorinkubiert. Da die Xanthon-Derivate praktisch nicht in Wasser löslich sind, wurde zu allen Analysenproben Äthanol hinzugefügt, bis eine Endkonzentration von 1 Volumenprozent erreicht war. Durch die geringe Zugabe von Äthanol wurden alle Bestandteile gelöst, aber die MAO-Aktivität nicht beeinflußt.

Sowohl Isogentisin als auch Isogentisin-3-O-glucosid verminderten die Fluoreszenz des 4-Hydroxychinolins.

Um den Einfluß verschiedener Konzentrationen von Isogentisin und Isogentisin-3-O-glucosid auf die Aktivität der MAO zu überprüfen, wurde der Grundversuch "Hemmstoff-Dosisabhängigkeit" (Abb. 25, S. 53) durchgeführt.

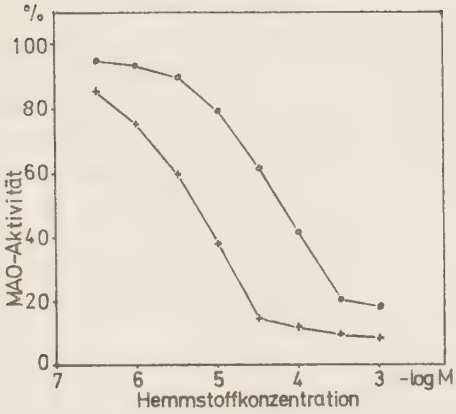


Abb. 25

Auswirkung verschiedener Konzentrationen von Isogentisin und Isogentisin-3-O-glucosid auf die Desaminierung von Kynuramin durch mitochondriale MAO aus Rattenhirn

x = Isogentisin-3-O-glucosid

o = Isogentisin

Die Konzentration des Substrates betrug 82 µM

Der nach dem Michaelis-Menten-Formalismus ausgewertete Test ergab eine Hemmung von 50% bei Verwendung von 4.0×10^{-6} Mol Isogentisin bzw. 5.6×10^{-5} Mol Isogentisin-3-O-glucosid, d.h. daß das Aglykon wesentlich effektiver ist als das Glykosid.

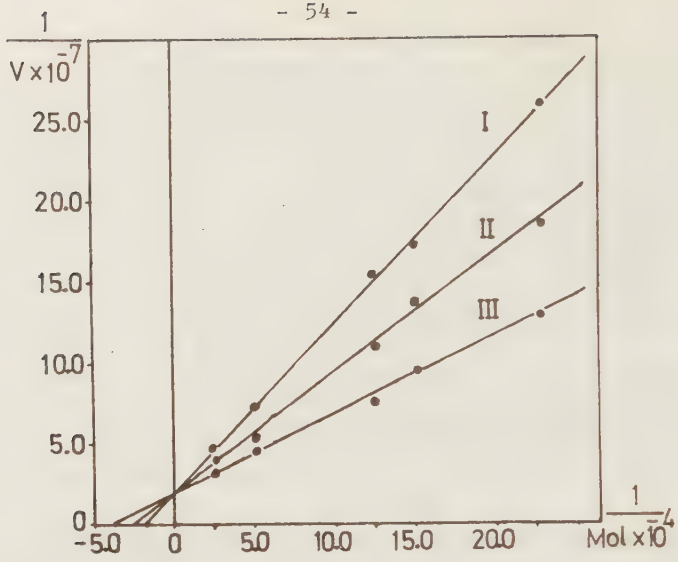


Abb. 26
Kompetitver Hemmtyp - Lineweaver-Burk-Diagramm

Das Lineweaver-Burk-Diagramm zeigt die kompetitive Hemmung von mitochondrialer MAO aus Rattenhirn durch Isogentisin und Isogentisin-3-O-glucosid.

I. 1.0×10^{-6} Mol Isogentisin
II. 1.0×10^{-5} Mol Isogentisin-3-O-glucosid
III. ohne Hemmstoff

v : Molmenge 4-Hydroxychinolin, gebildet pro mg Protein

Reaktionszeit: 30 Min.

Das Lineweaver-Burk-Diagramm (Abb. 26) demonstriert den "Hemm-Typ" beider Verbindungen. Der Inhibitor ist für das Enzym ein Pseudosubstrat, das mit dem aktiven Zentrum einen Komplex bildet, aber nicht weiter umgesetzt wird.

Kompetitve Hemmung liegt dann vor, wenn ein organisches Molekül mit dem Substrat um die Bindung am aktiven Zentrum konkurriert. Liegt der Hemmstoff in genügend hoher Konzentration

vor, so kann er das Substrat völlig verdrängen und dadurch die Reaktion blockieren. Durch Erhöhung der Substratkonzentration wird umgekehrt der Hemmstoff wieder verdrängt. Die Konkurrenz unterliegt dem Massenwirkungsgesetz. Man kann die Stärke der Hemmstoffbindung durch die Inhibitorkonstante K_i ausdrücken:

$$K_i = \frac{[E] \times [I]}{[EI]}$$

E = Enzym
I = Hemmstoff
EI = Enzym-Hemmstoff-Komplex

Tabelle 12

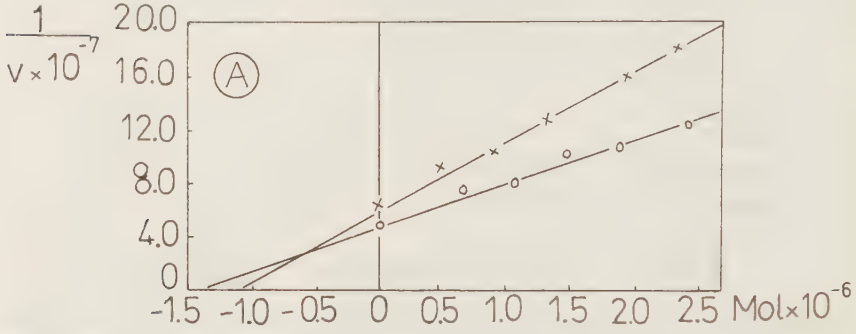
K_i-Werte für die Hemmung von MAO aus Gehirnmitochondrien durch Isogentisin und sein 3-O-Glucosid bei der Umsetzung verschiedener Substrate

Substrat	K_i-Werte (Mol x 10^{-6})	
	Isogentisin	Isogentisin-3-O-glucosid
5-Hydroxytryptamin (5-HT)	9.0	37
Kynuramin	0.92	21
β-Phenyläthylamin (PEA)	0.15	5.3

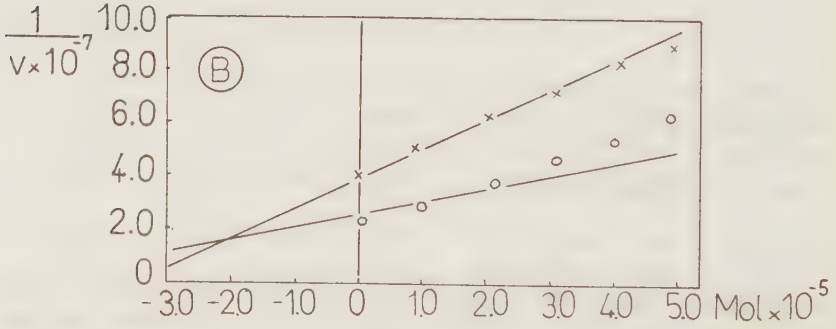
Die K_i-Werte sind für Isogentisin wesentlich kleiner als für das 3-O-Glucosid, d.h. das Aglykon ist fester an MAO gebunden, da die Halbsättigung des Enzyms mit Isogentisin schneller erreicht wird als mit dem Glykosid.
Der Aglykon-Enzym-Komplex dissoziiert schwächer als der Glykosid-Enzym-Komplex.

Da der Hemmstoff wie ein Substrat reagiert, ist die Umsetzung des Substrates in Gegenwart des Hemmstoffes wie eine Zwei-Substrat-Reaktion zu sehen. Um festzustellen, ob es sich um

eine einfache oder doppelte Verdrängungsreaktion handelt, untersucht man variable Konzentrationen des 1. Substrats bei konstant gehaltener Konzentration des 2. Substrats und trägt die Werte in ein DIXON-Diagramm[81] auf.



Isogentisin (Mol x 10^{-6})



Isogentisin-3-O-glucosid

Abb. 27

Diagramme nach DIXON

Variable Konzentrationen für: A = Isogentisin

B = Isogentisin-3-O-glucosid

Zwei konstante Konzentrationen für Kynuramin:

x = 15.3 µM

o = 40.9 µM

v = Molmenge 4-Hydroxychinolin pro mg Protein in 30 Min.

Die DIXON-Diagramme (Abb. 27, S. 56) zeigen für beide Inhibitoren ein Muster von divergierenden Geraden. Das bedeutet, daß es sich bei dem Reaktionstyp um eine geordnete einfache Verdrängungsreaktion handelt, hier jedoch mit der Einschränkung, daß nicht zwei Produkte entstehen, sondern nur das Abbauprodukt des Kynuramins und der wieder abdissoziierte Hemmstoff auf der rechten Seite der Gleichgewichte zu finden sind. Man kann die Betrachtungsweise nach DIXON in diesem Falle für das gemeinsame Vorhandensein von Hemmstoff und Substrat am Enzym anwenden. Dabei wird der Hemmstoff als zweites Substrat (Pseudosubstrat) betrachtet.

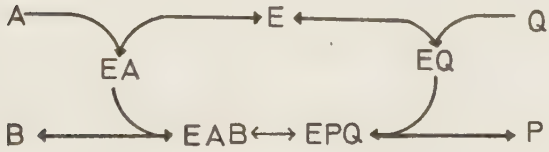


Abb. 28

A = Substrat 1 = Kynuramin
B = Substrat 2 = Inhibitor
Q = Produkt 1 = 4-Hydroxychinolin
P = Produkt 2 = abdiss.Inhibitor
E = Enzym = MAO

Um festzustellen, bis zu welchem Grad MAO gehemmt werden kann, gibt man verschiedene Dosen des Inhibitors in das Reaktionsgemisch. Dabei liegt eine konstante Konzentration der beiden Substrate β-Phenyläthylamin und 5-Hydroxytryptamin vor.

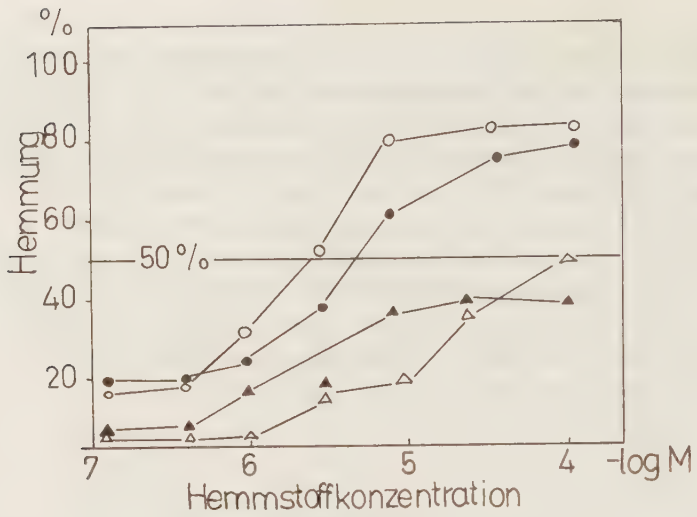


Abb. 29

Dosisabhängigkeit der Hemmung

● = β-Phenyläthylamin mit Isogentisin

▲ = β-Phenyläthylamin mit Isogentisin-3-O-glucosid

○ = 5-Hydroxytryptamin mit Isogentisin

△ = 5-Hydroxytryptamin mit Isogentisin-3-O-glucosid

Die Substratkonzentration betrug 62.5 µM.

Für 5-HT ergab sich eine 50%ige Hemmung der MAO mit 3×10^{-6} M Isogentisin für β-Phenyläthylamin mit 6×10^{-6} M Isogentisin (Abb. 29). Durch weitere Dosissteigerung konnte für Isogentisin eine nahezu 100%ige Hemmung erreicht werden, während die des Glykosids unter 50% blieb.

Zur Untersuchung von 5-Hydroxytryptamin (Abb. 29) wurde die radiochemische Methode von McCAMAN u. Mitarb.[82], für β-Phenyläthylamin die fluorometrische Methode von SUZUKI[83] verwendet.

Für eine therapeutische Anwendung ist die Reversibilität des Inhibitor-Enzym-Komplexes von Bedeutung.
Deshalb wurde MAO eine konstante Zeit mit dem Inhibitor vorinkubiert (Abb. 30, S. 60). Diese vorbehandelte MAO wurde anschließend für die Umsetzung der 3 Substrate verwendet und die entstehende Menge des Umsetzungsproduktes mit einem Kontrollversuch verglichen, in dem für die Reaktion unbehandelte MAO verwendet worden war.

T a b e l l e 13

Reversibilität der Hemmung mitochondrialer MAO durch Isogentisin und Isogentisin-3-O-glucosid

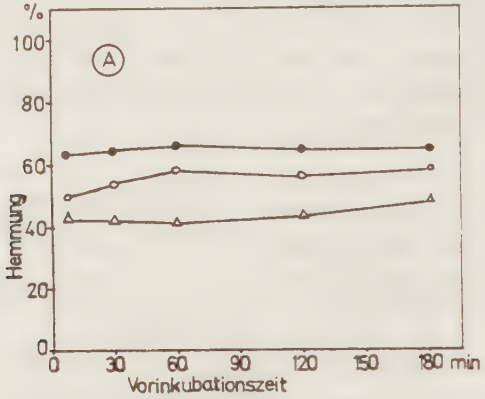
	Hemmung der MAO in % gegenüber ungehemmter Kontrolle		
	5-Hydroxytryptamin	Kynuramin	β-Phenyläthylamin
Ungewaschen			
Isogentisin	91.7	95.3	84.6
Isogentisin-3-O-glucosid	35.8	58.2	33.6
Gewaschen			
Isogentisin	78.0	78.6	77.2
Isogentisin-3-O-glucosid	-0.4	18.4	39.0

Die Substratkonzentration betrug für 5-HT 62.5 µM, für Kynuramin 82 µM und für PEA 62.5 µM.

Die Konzentration der Inhibitoren war 3.3×10^{-5} M für Isogentisin und 5.0×10^{-5} M für Isogentisin-3-O-glucosid.

Das Isogentisin zeigt in Gegenwart aller Substrate 10 - 20%ige Reversibilität. Das Isogentisin-3-O-glucosid ist um ca. den doppelten Prozentsatz reversibler.

Außerdem war noch von Interesse, ob die Sättigung der MAO mit dem Inhibitor schnell oder langsam erfolgt. Deshalb wurde in einem weiteren Versuch die Vorinkubationszeit variiert.



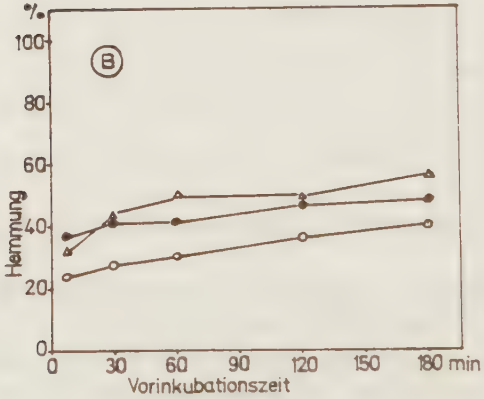


Abb. 30

Vorinkubationsbedingungen: 37°C, pH 7.4

A = Isogentisin 3.3×10^{-6} M

B = Isogentisin-3-O-glucosid 3.3×10^{-5} M

Versuchsbedingungen:

○ = 5-HT 62.5 µM

● = Kynuramin 82.0 µM

△ = β-Phenyläthylamin 62.5 µM

Das Ergebnis ist eine gleichbleibende Hemmung durch Isogentisin, unabhängig von der Vorinkubationszeit. Das Isogentisin-3-O-glucosid jedoch hemmt in dem untersuchten Zeitraum von 180 Min. umso besser, je länger es vorinkubiert wurde.

Da sich in allen Testen das Aglykon Isogentisin gegenüber dem Glykosid als stärker wirksam erwiesen hatte, wurden noch Aglykone mit anderen Substitutionsmustern einem Hemmtest unterzogen. Ausgewählt wurden 1,3-Dihydroxy-xanthon, Decussatin und Gentiacaulein. Alle Aglykone ergaben eine Hemmung zwischen 65 und 85%, das ist im Durchschnitt 40% mehr als bei den entsprechenden Glykosiden erreicht wurde (Tab. 14, S. 62). Zwischen Substitutionstyp (1.3/1.3.7/1.3.7.8) bzw. Zahl der OCH_3-Gruppen und Wirksamkeit waren jedoch keine Gesetzmäßigkeiten zu erkennen. (Abb. 31).

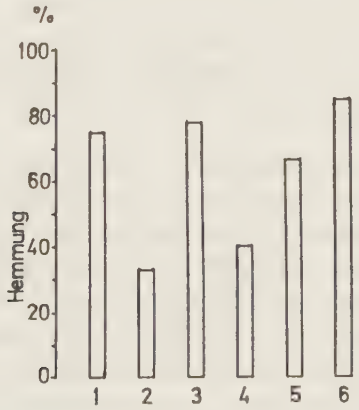


Abb. 31

Hemmung mitochondrialer MAO durch verschiedene Xanthonderivate

1 = Isogentisin
2 = Isogentisin-3-O-glucosid
3 = 1,3-Dihydroxy-xanthon
4 = 1,3-Dihydroxy-xanthon-3-O-glucosid
5 = Decussatin
6 = Gentiacaulein

Tabelle 14

Hemmstoffe	Hemmung der MAO-Aktivität in %
Isogentisin	74.9
Isogentisin-3-O-glucosid	32.8
1,3-Dihydroxy-xanthon	77.4
1,3-Dihydroxy-xanthon-3-O-glucosid	40.0
Decussatin	66.7
Gentiacaulein	84.6

Die Konzentration der Xanthon-Derivate betrug 1.0×10^{-5} M. Als Substrat wurde Kynuramin (82 µM) verwendet.

IV. Diskussion und Vergleich der Ergebnisse mit denen bisher bekannter Verbindungen

Nach den verschiedenen Hemmtesten zu urteilen, sind auch Xanthone und deren Glykoside zur Gruppe der MAO-hemmenden Substanzen mit ZNS-stimulierenden Eigenschaften zu rechnen. Die Auswertung nach dem Michaelis-Menten-Formalismus zeigt, daß die Aglykone wesentlich effektiver sind, d.h. stärkere Hemmwirkung besitzen als die Glykoside. Die Hemmung erfolgt, wie das Lineweaver-Burk-Diagramm demonstriert, ausschließlich kompetitiv, d.h. es findet eine Konkurrenz zwischen Hemmstoff und physiologischem Wirkstoff am Rezeptor statt. Dabei handelt es sich, wie aus dem Diagramm nach DIXON ersichtlich ist, um den Typ einer geordneten, einfachen Verdrüngungsreaktion. Die Wirkintensität des Aglykons hängt entscheidend von der verwendeten Dosis ab. Bei konstanter Substratkonzentration vergrößerte eine kontinuierliche Erhöhung der Inhibitormenge auch die Hemmfähigkeit. Dabei konnte für das Aglykon eine nahezu 100%ige Hemmung erreicht werden, während das 3-O-Glykosid nur eine 50%ige Hemmung erreichte.

Für alle verwendeten Substrate (5-Hydroxytryptamin, Kynuramin und β-Phenyläthylamin) gilt, daß der Aglykon-Enzym-Komplex schwächer dissoziiert als der Glykosid-Enzym-Komplex. Dabei spielt für die Stärke der Bindung bzw. Dissoziation die Vorinkubationszeit nur im Falle des Glykosids eine Rolle, da die Hemmung umso ausgeprägter wird, je länger vorinkubiert wurde. Das bedeutet, daß das Aglykon das Enzym sofort absättigt, während sich für den Glykosid-Enzym-Komplex eine Bindungskinetik ergibt. Die langsame, schwächere Bindung des Glykosids könnte damit erklärt werden, daß das Glykosid während des Versuches allmählich gespalten wird. Der Spaltungsvorgang wäre dann der geschwindigkeitsbestimmende Schritt.

Da die Versuchsbedingungen jedoch ausgesprochen schonend im Hinblick auf die leichte Spaltbarkeit des Glykosids gewählt wurden (pH 7.4; Temp. 37°C) ist diese Erklärung weniger wahrscheinlich. Vielmehr dürfte die viel schwächer ausgeprägte Affinität des Glykosids zum Enzym für die langsamere Ausbildung eines Enzym-Hemmstoff-Komplexes verantwortlich sein.

Möglicherweise könnten die Glykoside auf Grund größerer Plasmalöslichkeit als Transportform eine Rolle spielen. Im Organismus wäre eine enzymatische Spaltung des Glykosids möglich, so daß die Wirkform dann ebenfalls das Aglykon wäre. Da bisher hauptsächlich nur Gesamtextrakte verschiedener Gentianaceen untersucht wurden, war eine Differenzierung der Wirksamkeit von Aglykon und Glykosid noch nicht erfolgt.

Da im Gegensatz zu den bisher bekannten Hydrazinderivaten, von denen viele auf Grund ihrer Irreversibilität[76] aus dem Handel gezogen wurden, die Xanthon-Aglykone nach den oben beschriebenen Versuchen ca. 20% Reversibilität zeigen, wären sie auch vom therapeutischen Standpunkt aus interessant. Die Toxizität ist, wie aus "in vivo"-Versuchen von GHOSAL u. Mitarb.[40] hervorgeht, ebenfalls gering: 200 mg/kg bezogen auf einen Gesamtextrakt von Swertia purpurascens erwiesen sich als noch nicht giftig. Auch eine Änderung der Blutdruckwerte und andere Nebenwirkungen, die im Zusammenhang mit MAO-Hemmern genannt werden, konnten nicht beobachtet werden.

Die therapeutische Einsatzmöglichkeit von Xanthonen wird davon abhängen, ob und in welchem Umfang diese Wirkung auch nach peroraler bzw. parenteraler Gabe zu beobachten ist.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Zum Strukturbeweis natürlich vorkommender Xanthon-O-glykoside und zur Durchführung pharmakologischer Untersuchungen wurden, ausgehend von den freien oder partiell kaschierten Xanthonen, durch Umsetzung mit den entsprechenden α-Acetobromzuckern nach der KÖNIGS-KNORR-Methode erstmals vier 3-O- und vier 1-O-Glykoside synthetisiert. Im einzelnen wurden folgende Glykoside dargestellt:

a) 1,3-Dihydroxy-xanthon-3-O-β-D-glucopyranosid
b) 1,3-Dihydroxy-xanthon-3-O-β-cellobiosid
c) 1,3-Dihydroxy-7-methoxy-xanthon-3-O-β-D-glucopyranosid
d) 1,3-Dihydroxy-7-methoxy-xanthon-3-O-β-primverosid
e) 1-Hydroxy-3-methoxy-xanthon-1-O-β-cellobiosid
f) 1,3-Dihydroxy-5-methoxy-xanthon-1-O-β-D-glucopyranosid
g) 1-Hydroxy-3,7,8-trimethoxy-xanthon-1-O-β-primverosid
h) 1,7-Dihydroxy-3,8-dimethoxy-xanthon-1-O-β-primverosid

In jedem Fall konnte die vorgeschlagene Struktur der natürlich vorkommenden Glykoside mit Hilfe der ^{13}C- und ^{1}H-NMR-, der Massen- sowie der IR-Spektroskopie bestätigt werden.

Nachdem frühere Beobachtungen bei Anwendung xanthonhaltiger Pflanzenextrakte antidepressive Wirkungen gezeigt und Hinweise auf eventuellen Einfluß auf den Monoaminoxydase-Stoffwechsel geliefert hatten, wurden zunächst das von uns synthetisierte Isogentisin und sein 3-O-Glykosid auf mögliche MAO-hemmende Wirkungen untersucht. Die Testung erfolgte in einer modifizierten Methode nach KRAML unter Verwendung von Kynuramin als Substrat. Isogentisin zeigte in den Testreihen eine Hemmwirkung bis zu nahezu 80%, während das Isogentisin-3-O-glucosid 30-40% weniger effektiv war. Die anderen Aglykone (Decussatin, Gentiacaulein und 1,3-Dihydroxy-xanthon) bewirkten ebenfalls eine Verminderung der MAO-Aktivität um 60-80%. Die geringere Wirkung der Glykoside gegenüber den Aglykonen dürfte auf die viel schwächer ausgeprägte Affinität zum Enzym und die damit verbundene langsamere Ausbildung eines Enzym-Hemmstoff-Komplexes zurückzuführen sein.

E X P E R I M E N T E L L E R T E I L

Allgemeine Untersuchungs- und Arbeitsmethoden

I. Dünnschichtchromatographie

1. Sorptionsmittel

a) Kieselgel:

Für alle chromatographischen Untersuchungen wurden Kieselgel- 60 - Fertigplatten F_{254}, 20 x 20 cm, Schichtdicke 0.25 mm, der Fa. Merck, Darmstadt, verwendet.

Die präparative Dünnschichtchromatographie wurde entweder mit Kieselgel-60-Fertigplatten F_{254}, mit einer Schichtdicke von 0.5 mm, der Fa. Merck durchgeführt oder es wurden selbstgestrichene Glasplatten der Größe 20 x 20 cm verwendet. Hierzu wurden 30 g Kieselgel GF_{254} nach STAHL der Fa. Merck in 100 ml Äthylacetat suspendiert und auf 10 Platten verteilt. Nach Lufttrocknung und Aktivierung bei 100°C waren die Platten gebrauchsfertig.

b) Polyamid:

10 g Polyamid zur DS-Chromatographie nach STAHL, Fa. Macherey, Nagel u. Co., Düren, wurden mit 50 ml Methanol homogenisiert und auf 5 Platten verteilt. Nach Lufttrocknung waren die Platten gebrauchsfertig.

2. Fließmittelsysteme

a) Für Kieselgelplatten:

TÄ 1:1 = Toluol-Äthylacetat (1:1)
TÄ 3:1 = Toluol-Äthylacetat (3:1)
ÄMW = Äthylacetat-Methanol-Wasser (100:16.5:13.5)
PÄW = n-Propanol-Äthylacetat-Wasser (4:3:3)
BEW = n-Butanol-Essigsäure-Wasser (4:1:2)

b) Für Polyamidplatten:

MEW = Methanol-Wasser-Essigsäure (90:5:5)
TME = Toluol-Methanol-Essigsäure (45:32:16)
MW = Methanol-Wasser (9:1)

3. Detektionsmittel

Die entwickelten Dünnschichtplatten wurden nach dem Trocknen unter dem UV-Licht, Wellenlänge 366 bzw. 254 nm, betrachtet und anschließend mit einem der folgenden Reagenzien besprüht:

a) 1%ige methanolische Eisen-III-chloridlösung (freie C_1-, C_3- und C_7-OH-Gruppen)
b) konz. Schwefelsäure (Glykoside)

II. Säulenchromatographie

Kieselgelsäulen:

Kieselgel 60, Korngröße 0.063 - 0.2 mm der Fa. Merck wurde mit dem jeweiligen Elutionsmittel in die Säule eingeschlämmt. Die Tropfgeschwindigkeit betrug 15 - 20 Tropfen pro Minute bei einem Säulendurchmesser von 2 - 5 cm.

III. Physikalische Untersuchungen

1. Schmelzpunkte

Die Substanzen wurden in der Trockenpistole bei den Temperaturen, die den Schmelzpunkten angepaßt waren, über Diphosphorpentoxyd getrocknet. Das Schmelzintervall bestimmten wir mit der Mikroschmelzapparatur nach Kofler, Fa.C. Reichert, Wien. Die angegebenen Werte sind unkorrigiert.

2. Mikroanalysen

Die Bestimmungen wurden im Mikroanalytischen Laboratorium des Instituts für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München durchgeführt.

3. NMR-Spektren

Die Kernresonanzspektren wurden am Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München mit einem Varian A-60 Kernresonanzspektrometer aufgenommen. Zur Messung wurden 30 - 50 mg Substanz in 0.5 ml Hexadeuterodimethylsulfoxyd $(CD_3)_2SO$) oder Deuterochloroform ($CDCl_3$) verwendet. Substanzmengen von 2 - 3 mg wurden mit einem

Varian HA 100 Kernresonanzspektrometer im Max-Planck-Institut für Biochemie, Martinsried, untersucht.

4. IR-Spektren

Die Infrarotspektren wurden mit einem Beckman-Spezialphotometer IR 8 in Kaliumbromid aufgenommen.
Konzentration: 1 - 1.5 mg Substanz pro 150 mg Kaliumbromid.

5. Massenspektren

Die Massenspektren wurden an unserem Institut mit einem Massenspektrographen MS 30 von der Fa. AEI, Manchester, aufgenommen.

6. UV-Spektren

Die Ultraviolett-Absorptionsspektren wurden mit einem automatisch registrierenden Spektralphotometer Beckman DK-2A in Methanol p.A. aufgenommen. Die Einwaagen betrugen 0.5 - 0.6 mg auf 50 ml Lösungsmittel (Stammlösung). Die Schichtdicke betrug 1 cm.

Für die UV-Spektrenverschiebung wurden folgende Reagenzien verwendet:

a) Natriummethylat/äthylat-Lösung: 2.5 g Natrium in 100 ml Methanol/Äthanol. 3 ml einer doppelt konzentrierten Stammlösung (1.0 - 1.2 g Substanz in 50 ml Lösungsmittel) wurden mit 3 ml der Natriummethylat/äthylatlösung versetzt und sofort gemessen.

b) Natriumacetat: Die Stammlösung wurde mit wasserfreiem pulverisiertem Natriumacetat gesättigt und sofort gemessen.

c) Aluminiumchlorid: 5 g trockenes Aluminiumchlorid in 100 ml Methanol/Äthanol. Zu 6 ml Stammlösung wurden 2 Tropfen der Aluminiumchloridlösung zugefügt und sofort gemessen.

7. Optische Drehung

Die optische Drehung wurde im lichtelektrischen Polarimeter der Fa.Carl Zeiss LEP A_2 gemessen. Die Konzentration der jeweiligen Probe betrug etwa 1% in Pyridin oder Chloroform.

IV. Chemische Verfahren

1. Acetylierung

Die betreffende Substanz wurde zuerst getrocknet und anschließend in der 10-fachen Menge einer Mischung von Essigsäureanhydrid und trockenem Pyridin (1:1) entweder 5 - 10 Stdn. bei Zimmertemperatur stehen gelassen, oder, wenn die Stabilität der Substanz es zuließ, etwa 1/2 Stde. erhitzt und anschließend 5 Min. unter Rückfluß gekocht. Danach wurde das Reaktionsgemisch langsam in die 10-fache Menge Eiswasser eingerührt. Nach mehrstündigem Stehen wurde der Niederschlag abfiltriert, mehrmals mit Wasser gründlich nachgewaschen und aus dem im Versuchsteil angegebenen Lösungsmittel umkristallisiert.

2. Hydrolyse

Die Substanz wurde in der 50-fachen Menge Methanol p.A. gelöst und mit der gleichen Menge 0.5 n Natriummethylatlösung 1/2 Stde. auf dem Wasserbad erhitzt oder einfach mehrere Stunden bei Zimmertemperatur stehengelassen. Nach Beendigung der Reaktion wurde entweder mit Essigsäure angesäuert und mit Wasser verdünnt, oder mit Dowex^{R} Ionenaustauscher-Harz (Typ 50 WX 12) neutralisiert.
Das ausgefallene hydrolisierte Produkt wurde abgesaugt und entsprechend umkristallisiert.

3. Benzylierung

Die Substanz wurde in der jeweils angegebenen Menge von, über Calciumchlorid vorgetrocknetem und über Diphosphorpentoxyd destilliertem, Aceton gelöst und mit geglühtem Kaliumcarbonat und Benzylchlorid, das über eine Säule von frisch geglühtem Kaliumcarbonat getropft war, bei Anwesenheit von frisch getrocknetem Kaliumjodid solange unter Rückfluß erhitzt, bis chromatographisch das gewünschte Produkt nachgewiesen werden konnte. Anschließend wurde von den unlöslichen Salzen abfiltriert und gründlich mit Aceton nachgewaschen. Das Filtrat wurde dann zur Entfernung von überschüssigem Benzylchlorid einer Wasserdampf-

destillation unterzogen. Der nach kurzer Zeit ausgefallene Niederschlag wurde abfiltriert und umkristallisiert.

4. Methylierung

Die Substanz wurde in trockenem Aceton (siehe 3.) gelöst und mit geglühtem Kaliumcarbonat und Dimethylsulfat (die Reinigung erfolgte durch Destillation über geglühtem Kaliumcarbonat) solange unter Rühren am Rückfluß erhitzt, bis chromatographisch alles umgesetzt war.

Dann wurde die noch heiße Lösung abfiltriert und das zurückbleibende Kaliumcarbonat mit heißem Aceton zwei- bis dreimal nachgewaschen. Nach Abdampfen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde das amorphe Produkt umkristallisiert.

5. Hydrierung

Die Substanz wurde, wenn möglich, in Äthylacetat gelöst und nach Zugabe von ca. 10% Palladium-Aktivkohle unter Druck katalytisch mit einem Hydriergerät nach PARR ^{R} der Fa. Gerhardt hydriert. Die Reaktion wurde solange fortgesetzt, bis chromatographisch kein Ausgangsprodukt mehr nachgewiesen werden konnte. Dann wurde über ein Kohlefilter abfiltriert, im Vakuum bis zur Trockne eingeengt und umkristallisiert.

Xanthon-3-O-glykoside

I. Synthese von 1,3-Dihydroxy-xanthon-3-O-β-D-glucopyranosid

1. 1,3-Dihydroxy-xanthon (I) nach GROVER, SHAH u. SHAH[63]

Eine Mischung aus 1 g Salicylsäure, 1.4 g Phloroglucin und 3 g frisch geschmolzenem Zinkchlorid wurden nach Zugabe von 7 ml Phosphoroxitrichlorid 2 Stdn. bei 60 - 70°C unter Rückfluß erhitzt. Anschließend behandelte man das Reaktionsgemisch mit Eis und säuerte mit verd. Salzsäure an. Nach ca. 8 - 10 Stdn. wurde der ausgefallene Niederschlag abgesaugt, mit viel Wasser nachgespült und anschließend in Chloroform aufgenommen. Die Lösung wurde dann mit 5%iger Natriumhydrogencarbonatlösung und Eiswasser ausgeschüttelt, eingeengt und aus verdünntem Alkohol umkristallisiert.
Smp. 255 - 257°C (Lit.[63] Smp. 256 - 258°). Ausbeute: 0.8 g = 49% d.Th..

2. α-1-Brom-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-D-glucopyranose (II) (α-Acetobromglucose) nach BARCZAI-MATOS u. KÖRÖSY[53]

800 ml Essigsäureanhydrid und 4.8 ml Perchlorsäure wurden im Laufe einer halben Stunde unter Rühren mit 200 g getrockneter D-Glucose versetzt. Die Temperatur der Lösung wurde währenddessen zwischen 30 und 40°C gehalten. Dann wurde 60 g amorpher Phosphor hinzugefügt und zu der auf 20°C gekühlten (Eis-Kochsalz-Kühlung) Lösung 360 g Brom und danach 72 ml Wasser unter Vermeidung lokaler Erwärmung zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde dann 1 1/2 Stdn. stehengelassen, nach Zugabe von 600 ml Chloroform in 2 l Eiswasser gegossen, die Chloroformschicht von den Phosphorresten filtriert, mit Eiswasser und Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen, mit $CaCl_2$ getrocknet und im Vakuum abdestilliert. Der sirupöse Rückstand wurde aus abs. Äther/Petroläther kristallisiert.
Ausbeute: 360 g = 85% d.Th.. Smp. 84 - 85°C.
Wegen der besseren Haltbarkeit ist es zweckmäßig, das Produkt ein zweites Mal umzukristallisieren.
Smp. 88 - 89°C. (Lit.[53] Smp. 88°C).

3. 1,3-Dihydroxy-xanthon-3-O-β-D-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)-glucopyranosid (III)

228 mg (= 1 mMol) von I wurden in 10 ml trockenem Pyridin gelöst und nach Zugabe von ca. 5 g Drierite^{R} und 493 mg Silbercarbonat unter völligem Ausschluß von Licht und Feuchtigkeit 1/2 Stde. bei Zimmertemperatur gerührt. Anschließend wurde 493 mg (= 1.2 mMol) α-Acetobromglucose hinzugegeben und nochmals 6 Stdn. bei Raumtemperatur gerührt. Das braune Reaktionsgemisch wurde dann in 100 ml frisch zubereitete eisgekühlte Kaliumchloridlösung (10%ig) gegossen und eine weitere Stunde gerührt. Der ausgefallene braune Niederschlag wurde abgesaugt, gründlich mit Wasser gewaschen, getrocknet und in einem Soxhlet mit Aceton extrahiert. Die braune Lösung wurde eingeengt und der sirupöse Rückstand über eine Kieselgelsäule mit dem Laufmittel Toluol/Äthylacetat (1:1) gereinigt.
Umkristallisieren aus Alkohol ergab dünne, gelbe Nadeln mit einem Schmelzpunkt von 178 - 179°C. Ausbeute: 0.32 g = 58% d.Th..

$C_{27}H_{26}O_{13}$ (558.49) Ber. C 58.07 H 4.69
Gef. C 57.93 H 4.64

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{25} = -49.7^{\circ}$ (c = 0.718 in Chloroform)

DC: Kieselgel-TÄ (1:1) R_f 0.49

NMR-Spektrum, $CDCl_3$, TMS int.
δ(ppm): 2.0 - 2.2 (12 H, OAc), 4.2 - 4.4 (3 H, CH_2O-6', H-5'), 5.1 - 5.4 (4 H, H-1', H-2', H-3', H-4'), 6.45 (d, J = 2 Hz, 1 H, H-2), 6.55 (1 H, d, J = 2 Hz, H-4), 7.25 - 7.8 (3 H, m, H-5, H-6, H-7), 8.35 (1 H, dd, J = 7 und 2 Hz, H-8), 12.93 (1 H, s, OH-1).

4. 1-Acetoxy-3-hydroxy-xanthon-3-O-β-D-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)-glucopyranosid (IV)

100 mg von III wurden in 3 ml trockenem Pyridin gelöst und anschließend wurde unter Rühren dieselbe Menge Essigsäureanhydrid hinzugetropft. Nach 10stündigem Stehen wurde die Substanz in 50 ml Eiswasser eingerührt, der ausfallende Niederschlag abgesaugt und aus Chloroform umkristallisiert. Man erhielt farb-

lose Nadeln mit einem Schmelzpunkt von 202 - 203°C.
Ausbeute: 99 mg = 93% d.Th..

$C_{29}H_{28}O_{14}$ (600.51) Ber. C 58.00 H 4.70
Gef. C 57.80 H 4.81

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{25} = -42.3^\circ$ (c = 0.2345 in Chloroform)

DC: Kieselgel-TÄ (1:1) R_f 0.54

NMR-Spektrum, $CDCl_3$, TMS int.
δ(ppm): 2.05 - 2.15 (12 H, OAc), 2.5 (3 H, s, OAc-1), 4.2 - 4.4 (3 H, CH_2O-6', H-5'), 5.2 - 5.4 (4 H, H-1', H-2', H-3', H-4'), 6.7 (1 H, d, J = 2 Hz, H-2), 6.95 (1 H, d, J = 2 Hz, H-4), 7.2 - 7.8 (3 H, H-5, H-6, H-7), 8.25 (1 H, dd, J = 2 Hz und 7 Hz, H-8).

5. 1,3-Dihydroxy-xanthon-3-O-β-D-glucopyranosid (V)

120 mg von II wurden in 3 ml Methanol p.A. gelöst und unter Ausschluß von Feuchtigkeit 10 Min. auf 30 - 40°C erwärmt. Dann wurden 2 Tropfen 5.4%ige, frisch zubereitete Natriummethylatlösung hinzugefügt und solange bei Zimmertemperatur stehengelassen, bis chromatographisch kein Ausgangsprodukt mehr nachzuweisen war. Hierauf wurde mit Ionenaustauscher Dowex 50^R neutralisiert und aus abs. Methanol umkristallisiert. Man erhielt hellgelbe Nadeln mit einem Schmelzpunkt von 204 - 205°C.
Ausbeute: 62.5 mg = 75% d.Th.

$C_{19}H_{18}O_9$ (390.2) Ber. C 58.47 H 4.64
Gef. C 58.36 H 4.56

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{25} = -54.7^\circ$ (c = 0.5665 in Pyridin)

DC: Kieselgel-ÄMW R_f 0.46
$FeCl_3$-Reaktion: + (blau-grau)

IR-Spektrum, cm^{-1}: 3150 (b) OH, 3090 CH-Valenzschw. Aromat, 1640, 1620 (m) C=O mit H-Brückenbindung, 1560 (m) Aromat, 1400 (m), 1290 (w), 1070 (b) -C-O- Zucker

NMR-Spektrum, DMSO-d_6 + TFA d_6, TMS int.
δ(ppm): 3.2 - 3.9 (6 H, Zuckerprotonen), 5.2 (br., 1 H, d, J = 7 Hz, H-1'), 6.55 (1 H, d, J = 2 Hz, H-4), 6.75 (1 H, d, J = 2 Hz, H-2), 7.2 - 8.4 (4 H, H-5, H-6, H-7, H-8).

II. Synthese von 1,3-Dihydroxy-xanthon-3-O-β-cellobiosid

1. 2,3,4-Tri-O-acetyl-4-O-(2,3,4-tri-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranosyl-bromid (VI)[56]

5 g Cellobioseoctaacetat wurden in 50 ml gereinigtem Chloroform gelöst, in einem Eisbad abgekühlt und mit 12.5 ml eiskaltem, 36.7%igem Bromwasserstoff-Eisessig versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 1 1/2 Stdn. bei 0°C aufbewahrt und anschließend je 3mal mit Eiswasser, 3mal mit einer eiskalten, gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung und wieder 3mal mit Eiswasser ausgeschüttelt. Die Chloroformphase wurde dann mit Natriumsulfat getrocknet, filtriert und bei Zimmertemperatur am Rotationsverdampfer eingeengt. Zugabe von trockenem Äther, wiederholtes Abdampfen und Kratzen mit einem Glasstab, ergab 3.2 g = 62.1% d.Th.. Der Schmelzpunkt betrug 175°C. Dieses Produkt konnte ohne weitere Reinigung zur Glykosidierung verwendet werden. Durch Umkristallisieren einer kleinen Probe aus wenig Chloroform, unter langsamem Zusatz von wasserfreiem Äther zu der filtrierten Lösung bis zur Trübung, erhielt man den Acetobromzucker mit einem Schmelzpunkt von 181 - 182°C.

DC: Kieselgel-TÄ (1:1) R_f 0.54

2. 1,3-Dihydroxy-xanthon-3-O-β-(hepta-O-acetyl)-cellobiosid (VII)

228 mg 1,3-Dihydroxy-xanthon wurdenin 10 ml getrocknetem Pyridin gelöst und nach Zugabe von 5 g Drierite^R, 847 mg Silbercarbonat und derselben Menge Acetobromcellobiose, wie oben beschrieben, glykosidiert. Nach der üblichen Aufarbeitung und Reinigung wurde aus Äthanol umkristallisiert und man erhielt hellgelbe Kristalle mit einem Schmelzpunkt von 238 - 239°C.

Ausbeute: 0.67 g = 80% d.Th.

$C_{39}H_{42}O_{21}$ (846.7) Ber. C 55.32 H 5.01
Gef. C 55.11 H 4.99

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{25} = -46.7^\circ$ (c = 0.8577 in Chloroform)

DC: Kieselgel-TÄ (1:1) R_f 0.59

IR-Spektrum, cm^{-1}: 2990 (m) CH Aromat, 1760 (s), 1665 (m) Keton mit H-Brückenbindung, 1630 (m), 1600 (Schulter) Aromat, 1390 (m) OH, 1240(b), 1050 (b) -C-O- Zucker 1,2

NMR-Spektrum, $CDCl_3$, TMS int.
δ(ppm): 2.0 - 2.25 (21 H, OAc), 3.8 - 5.3 (14 H, Zuckerprotonen), 6.4 (1 H, d, J = 2 Hz, H-2), 6.5 (1 H, d, J = 2 Hz, H-4), 7.2 - 7.8 (4 H, H-5, H-6, H-7, H-8), 8.2 (1 H, dd, J = 2 Hz und 7 Hz, H-8) 12.8 (1 H, s, OH-1).

3. 1-Acetoxy-3-hydroxy-xanthon-3-O-β-(hepta-O-acetyl)-cellobiosid (VIII)

0.3 g von VII wurdennach der üblichen Methode acetyliert und aus Chloroform/n-Hexan kristallisiert. Man erhielt farblose Nadeln mit einem Schmelzpunkt von 231 - 232°C.
Ausbeute: 0.31 g = 85% d.Th.

$C_{41}H_{44}O_{22}$ (888.5) Ber. C 55.64 H 5.06
Gef. C 55.36 H 4.99

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{25}$ = -49.5° (c = 0.501 in Chloroform)
DC: Kieselgel-TÄ (1:1) R_f 0.64

IR-Spektrum, cm^{-1}: 2990 (m-b) CH-Valenzschwingung Aromat, 1740 (ss) C=O, 1650 (s) 1600 (d) Aromat, 1225 (b) -C-O- Zucker, 1040 (b) -C-O- Zucker

NMR-Spektrum, $CDCl_3$, TMS int.
δ(ppm): 1.95 - 2.25 (21 H, OAc), 2.48 (3 H, s, OAc-1), 3.8 - 5.4 (14 H, Zuckerprotonen), 6.65 (1 H, d, J = 2 Hz, H-2), 6.95 (1 H, d, J = 2 Hz, H-4), 7.2 - 7.7 (3 H, H-5, H-6, H-7), 8.2 (1 H, dd, J = 2 Hz und 7 Hz, H-8).

4. 1,3-Dihydroxy-xanthon-3-O-β-cellobiosid (IX)

300 mg des Kondensationsproduktes VII wurden in Methanol p.A. gelöst und wie oben beschrieben mit 5.4%iger Natriummethylatlösung entacetyliert. Aus absolutem Methanol erhielt man hellgelbe Kristalle mit einem Schmelzpunkt von 294 - 295°C.
Ausbeute: 195 mg = 75% d.Th.

$C_{25}H_{28}O_{14}$ (552.2) Ber. C 54.28 H 5.26
Gef. C 54.01 H 5.18

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{25} = -29.06^o$ (c = 0.264 in Pyridin)

DC: Kieselgel-ÄMW R_f 0.19
$FeCl_3$-Reaktion: + (blau-grau)

IR-Spektrum, cm^{-1}: 3200 (b) OH, 2920(m) CH, 1680 (m) C=O, 1610 (m) Aromat, 1500 (b) Aromat, 1312 (m-b) OH, 1089 (b) -C-O-

NMR-Spektrum, DMSO-d_6 + TFA, TMS int.
δ(ppm): 3.1 - 4.5 (13 H, Zuckerprotonen), 5.3 (1 H, b, $W_{1/2}$ = 9 Hz, H-1'), 6.6 (1 H, d, J = 2 Hz, H-2), 6.8 (1 H, d, J = 2 Hz, H-4), 7.4 - 8.4 (4 H, H-5, H-6, H-7, H-8).

III. Synthese von 1,3-Dihydroxy-7-methoxy-xanthon-3-O-β-D-glucopyranosid

1. 1,3-Dihydroxy-7-methoxy-xanthon (X) nach GROVER, SHAH u. SHAH (Isogentisin)[63]

2 g 2-Hydroxy-5-methoxy-benzoesäure, die durch Methylierung von 2,5-Dihydroxy-benzoesäure mit frisch destilliertem Dimethylsulfat hergestellt worden war, wurden zusammen mit 2.2 g Phloroglucin und 6 g frisch geschmolzenem und fein zerriebenem Zinkchlorid in 16 ml Phosphoroxitrichlorid aufgeschlämmt und anschließend 2 Stdn. bei 70°C unter Rückfluß erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde dann vorsichtig unter Rühren in Eiswasser gegossen, der rotbraune Niederschlag in Lösung gebracht und mit Natriumhydrogencarbonatlösung ausgeschüttelt. Anschließend wurde mit Kohle geklärt und das so erhaltene vorgesäuberte Produkt bei 230 - 240°C/ 1 - 2 mm sublimiert. Dieses, bereits sehr saubere Produkt, wurde dann noch aus verdünntem Alkohol kristallisiert und man erhielt so hellgelbe Nadeln mit einem Schmelzpunkt von 244°C. (Lit.[63] Smp. 239 - 240°C).
Ausbeute: 0.9 g = 20% d.Th.

$C_{14}H_{10}O_5$ (258.18) Ber. C 65.1 H 3.90
Gef. C 65.0 H 3.65

DC: Kieselgel-TÄ (1:1) R_f 0.54
Kieselgel/TÄ (3:1) R_f 0.60
Polyamid/MWE (90:5:5) R_f 0.18

2. 1,3-Dihydroxy-7-methoxy-xanthon-3-O-β-D-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)-glucopyranosid (XI)

259 mg Isogentisin (X) (= 1 mMol) wurden mit 1.2 mMol α-Acetobromglucose unter Zusatz von Drierite^R und Silbercarbonat in trockenem Pyridin glykosidiert. Die optimale Reaktionszeit betrug in diesem Falle 8 - 10 Stdn. Nach der bekannten Aufarbeitung mit 10%iger Kaliumchloridlösung wurde das noch stark verunreinigte Produkt über eine Kieselgelsäule mit dem Laufmittel Chloroform-Isopropanol (1:1) chromatographiert. Anschließend wurde aus verdünntem Alkohol kristallisiert. Man erhielt hellgelbe Nadeln mit einem Schmelzpunkt von 197 - 198°C.

Ausbeute: 235 mg = 37% d.Th.

$C_{28}H_{28}O_{14}$ (588.3) Ber. C 57.34 H 4.80
Gef. C 57.14 H 4.79

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{25} = -49.2^\circ$ (c = 1.0432 in Chloroform)

DC/ Kieselgel-TÄ (1:1) R_f 0.47

NMR-Spektrum, $CDCl_3$, TMS int.
δ(ppm): 2.05 - 2.25 (12 H, OAc), 3.95 (3 H, s, OMe), 4.2 - 4.4 (3 H, CH_2-6', H-5'), 5.2 - 5.5 (4 H, H-1', H-2', H-3', H-4'), 6.45 (1 H, d, J = 2 Hz, H-2), 6.55 (1 H, d, J = 2 Hz, H-4), 7.25 - 7.7 (3 H, H-5, H-6, H-8), 12.95 (1 H, OH-1).

3. 1-Acetoxy-3-hydroxy-7-methoxy-xanthon-3-O-β-D-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)-glucopyranosid (XII)

0.2 g von XI wurden nach der beschriebenen Methode acetyliert und wie üblich aufgearbeitet. Aus Chloroform-Äthanol erhielt man weiße Kristalle mit einem Schmelzpunkt von 212 - 214°C.

Ausbeute: 0.18 g = 79.7% d.Th.

$C_{30}H_{30}O_{15}$ (630.54) Ber. C 57.14 H 4.81
Gef. C 56.85 H 4.79

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{25} = -47.8^{\circ}$ (c = 1.0848 in Chloroform)

DC: Kieselgel-TÄ (1:1) R_f 0.37

NMR-Spektrum, $CDCl_3$, TMS int.
δ(ppm): 2.05 - 2.15 (12 H, OAc), 2.45 (3 H, s, OAc-1), 3.85 (3 H, s, OMe), 4.15 - 4.35 (3 H, CH_2-6', H-5'), 5.2 - 5.4 (4 H, H-1', H-2', H-3', H-4'), 6.65 (1 H, d, J = 2 Hz, H-2), 6.9 (1 H, d, J = 2 Hz, H-4), 7.2 - 7.7 (3 H, H-5, H-6, H-8).

4. 1,3-Dihydroxy-7-methoxy-xanthon-3-O-β-D-glucopyranosid (XIII)

0.25 g von XI wurden nach dem üblichen Verfahren mit Natriummethylat in Methanol verseift und aus absolutem Methanol kristallisiert. Wir erhielten gelbe Nadeln mit einem Schmelzpunkt von 246 - 247°C.

Ausbeute: 0.13 g = 73% d.Th.

$C_{20}H_{20}O_{10}$ (420.72) Ber. C 57.82 H 4.97
Gef. C 57.09 H 4.89

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{27} = -42.2$ (c = 0.5105 in Pyridin)

DC: Kieselgel-ÄMW R_f 0.43
$FeCl_3$-Reaktion: + (blau-grau)

NMR-Spektrum, DMSO-d_6 + TFA-d_6 , TMS int.
δ(ppm): 3.2 - 4.0 (10 H, OMe und Zuckerprotonen), 5.2 (1 H, b, $W_{1/2}$ = 8 Hz, H-1'), 6.45 (1 H, d, J = 2 Hz, H-2), 6.70 (1 H, d, J = 2 Hz, H-4), 7.5 (3 H, m, (b), H-5, H-6, H-8).

IV. Synthese von 1,3-Dihydroxy-7-methoxy-xanthon-3-O-β-(hexa-O-acetyl)-primverosid (Gentiosid)

1. Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-O-(2,3,4-tri-O-acetyl-β-D-xylopyranosyl)-α-D-glucopyranosyl-bromid (-chlorid) (α-Acetobrom(chlor)primverose)

A. nach ZEMPLEN u. BOGNAR[57])

a) 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl-β-D-glucopyranose

50 g frisch geschmolzenes, fein zerstroßenes Natriumacetat wurden in 700 ml Essigsäureanhydrid aufgenommen und bis 100°C erhitzt. Dann wurde in kleinen Portionen 100 g getrocknete D-Glucose unter Beachtung der Temperatur (nicht über 135°C steigen lassen) hinzugefügt und ca. 1/2 Stde. weiter erwärmt. Die abgekühlte Lösung wurde schließlich auf Eiswasser gegossen und solange mit einem Glasstab gerührt, bis ein dicker flockiger Niederschlag ausgefallen war. Dieser wurde abgesaugt, mit viel Wasser säurefrei gewaschen und aus 650 ml Äthanol umkristallisiert.

Schmelzpunkt: 133°C
Ausbeute: 120 g = 55.3% d.Th.

b) Phenyl-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranose

Zu einer leicht erwärmten Mischung von 750 mg p-Toluolsulfonsäure und 50 g Phenol wurde 58.5 g 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl-β-D-glucopyranose zugefügt. Die Lösung wurde 2 Stdn. unter Rückfluß erwärmt und anschließend unter Zusatz von 10 - 20 g Calciumcarbonat einer Wasserdampfdestillation unterzogen.

Nach Abkühlen der Lösung wurde mit Chloroform extrahiert und aus Äthanol umkristallisiert.

Schmelzpunkt: 125°C
Ausbeute: 23 g = 36% d.Th.

c) 1,6-Anhydro-β-glucopyranose-triacetat

In eine Lösung von 42.9 g NaOH + 333 ml Wasser wurden 55.1 g (1.3 Mol) Phenyl-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranose hinzugegeben und in einem Heizpilz 20 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlung auf Zimmertemperatur wurde mit verd. Schwefelsäure neutralisiert und zur Trockne eingeengt. Der Rückstand wurde in 250 ml kochendes Äthanol aufgenommen und von den unlöslichen Salzen abfiltriert und gut mit Äthanol nachgewaschen. Die gesammelten Äthanollösungen wurden eingeengt und solange mit Toluol abrotiert, bis kein Geruch nach Äthanol mehr wahrnehmbar war. Anschließend wurde mit Essigsäureanhydrid/Natriumacetat acetyliert, wie üblich aufgearbeitet und gereinigt und schließlich aus Äthanol kristallisiert.

Schmelzpunkt: 110°C. Ausbeute: 12.4 g = 42% d.Th.

d) α-1-Chlor-2,3,4-triacetyl-glucose

10 g 1,6-Anhydro-β-glucopyranose-triacetat (Triacetyl-lävoglucosan) wurden in 100 ml Chloroform p.A. unter Zusatz von 0.5 ml abs. Äthanol gelöst und unter Eiskühlung 8 ml Titantetrachlorid hinzugegeben. Anschließend wurde auf dem Wasserbad 45 Min. unter Rückfluß erhitzt, abgekühlt und auf Eiswasser gegossen. Dann wurde mit Eiswasser und Natriumhydrogencarbonatlösung neutral gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet, bis auf 20 ml eingeengt und aus warmen n-Hexan auskristallisiert.

Schmelzpunkt: 124°C.

e) α-Brom-D-Xylopyranose-triacetat (α-Acetobromxylose) nach BARCZAI-MATOS u. KÖRÖSY[53]

200 ml Essigsäureanhydrid und 1.2 ml Perchlorsäure wurden im Laufe 1/2 Stde. mit 50 g getrockneter D-Xylose unter Rühren versetzt, wobei die Temperatur auf 30 - 40°C gehalten wurde. Dann versetzte man die Lösung mit 15 g amorphem, rotem Phosphor und tropfte unter Vermeidung lokaler Erwärmung 90 g Brom sehr langsam hinzu, ließ 30 Min. reagieren und fügte dann noch 18 ccm Eiswasser hinzu. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend 1 1/2 Stdn. stehengelassen und nach Zugabe von 150 ml Chloroform sorgfältig filtriert, wie üblich aufgearbeitet, gereinigt und eingeengt. Den zurückbleibenden Sirup kristallisierten wir aus trockenem Äther.

Schmelzpunkt: 84 - 85°C. Ausbeute: 96 g = 85% d.Th..

NMR-Spektrum, $CDCl_3$, TMS int.
δ(ppm): 1.9 - 2.28 (9 H, OAc), 3.6 - 5.85 (5 H, Zuckerprotonen), 6.65 (1 H, d, J = 4 Hz, H-1).

f) 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-O-(2,3,4-tri-O-acetyl-β-D-xylopyranosyl)-α-D-glucopyranosyl-chlorid (α-Acetochlorprimverose)

47.0 g frisch hergestellte α-Acetobromxylose und 49.5 g α-1-Chlor-2,3,4-triacetyl-glucose wurden mit 600 ml abs. Benzol übergossen und nach Zusatz von 21.4 g Quecksilber-II-acetat unter Schütteln auf 40 - 50°C erwärmt, wobei bis auf geringe Mengen alles in Lösung ging. Nach ca. 1 Stde. schieden sich in der violetten Lösung allmählich Kristalle ab, die sich nach 7 Stdn. nicht mehr vermehrten. Der abfiltrierte Niederschlag wurde in 450 ml Chloroform gelöst und anschließend 2mal mit Wasser unter Zusatz einer geringen Menge 5%iger Kaliumjodidlösung ausgeschüttelt, wobei die violette Farbe restlos verschwand. Nach Klärung mit Kohle und Trocknung mit Natriumsulfat wurde unter vermindertem Druck auf ca. 150 ml eingeengt und aus Äther/Petroläther kristallisiert. Die farblosen Nadeln wurden schließlich über Phosphorpentoxyd im Vakuumexsikator getrocknet.

Schmelzpunkt: 186 - 192°C. Ausbeute: 6.8 g = 8.4% d.Th.

NMR-Spektrum, $CDCl_3$, TMS int.
δ(ppm): 1.85 - 2.25 (18 H, OAc), 3.18 - 5.76 (12 H, Zuckerprotonen), 6.35 (1 H, d, J = 4 Hz, H-1).

B. Spaltung mit Dihalogenmethyl-methyläthern nach SZABO, BOGNAR u. FARKAS[59]

a) α-1-Methyl-D-glucopyranose

Die Methylierung der Glucose erfolgte mit Methanol in Gegenwart des Kationenaustauscherharzes Dowex 50 in der Säureform[5]. Eine Mischung von 40 g wasserfreier α-D-Glucose, 100 ml Methanol und 10 g Dowex 50 (H^+) wurde unter Rühren am Rückfluß gekocht, wobei die Glucose in 1 1/2 Stdn. in Lösung ging. Nach 24 Stdn. Reaktionszeit wurde abfiltriert, gründlich gewaschen und auf etwa 60 ml eingeengt und aus Äthanol kristallisiert.

Schmelzpunkt: 167 - 169°C

b) α-Methyl-primverose-hexaacetat

25 g α-1-Methyl-D-glucopyranose, 18 g Silberoxyd, 70 g Drierite^R und 70 ml Chloroform wurden 1 Stde. unter Rückfluß erhitzt und nach Zugabe von 3 g Jod und 25 g α-Acetobromxylose, die zuerst in 110 ml Chloroform gelöst worden war, 24 Stdn. gerührt. Anschließend wurde von den Silbersalzen abfiltriert, wie üblich aufgearbeitet und aus Äther/Chloroform kristallisiert.

Schmelzpunkt: 217°C (Lit.[59] Smp. 217 - 220°C)

c) α-Acetochlorprimverose unter Verwendung von Dichlor-methyl-methyl-äther

5 g kristallines α-Methyl-primverose-hexaacetat wurden in 20 ml abs. Chloroform gelöst und nach Zugabe von 5 ml Dichlormethyl-methyläther und 1 g frisch geschmolzenem, wasserfreiem Zinkchlorid 2 Stdn. auf dem Wasserbad bei 75 - 80°C erwärmt. Anschließend wurde die Chloroformlösung von den unlöslichen Rückständen abfiltriert und im Vakuum ein-

geengt. Aus dem erhaltenen Sirup versuchten wir α-Acetochlorprimverose durch 3 - 4maliges Verreiben mit Äther (insgesamt ca. 150 ml) herauszulösen.

Anmerkung: Schmelzpunkt, DC und schließlich ein aufgenommenes NMR-Spektrum bestätigten, daß nicht die gewünschte α-Acetochlorprimverose entstanden war, sondern lediglich deren Spaltprodukte. Auch der Versuch, 1,6-Anhydro-β-glucopyranosetriacetat mit Dichlormethyl-methyläther zu spalten, um so α-1-Chlor-2,3,4-triacetylglucose zu erhalten, erwies sich als nicht durchführbar.

C. Nach McCLOSKEY u. COLEMAN[60] in der Verbesserung nach HELFERICH u. RAUCH[61]

a) 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-O-triphenylmethyl-β-D-glucopyranose

18 g wasserfreie D-Glucose (0.100 Mol) und 30.0 g (0.104 Mol) frisch kristallisiertes Triphenylmethylchlorid (Chlorotriphenylmethan) wurden in 100 ml wasserfreiem Pyridin gelöst und 15 Stdn. bei 40°C gerührt. Falls chromatographisch noch nicht alles umgesetzt war, wurde die Reaktionszeit auf 20 - 25 Stdn. ausgedehnt. Anschließend kühlten wir auf ca. 25°C ab und fügten 60 ml Acetanhydrid hinzu. Nach weiteren 2 Stdn. gaben wir das Reaktionsgemisch in 2 l Eiswasser und ließen 4 Stdn. sehr kräftig rühren. Im Anschluß daran wurde mit 3mal 150 ml Chloroform extrahiert, gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert und bei 40°C eingeengt. Durch Abrotieren mit Toluol konnten noch vorhandene Pyridinreste entfernt werden. Aus 95%igem Alkohol erhielten wir einen kristallinen Niederschlag, der mit ca. 50 ml Äther mehrmals gewaschen wurde. Daraufhin wurde nochmals mit 95%igem Alkohol umkristallisiert. Wir erhielten farblose, dünne Nadeln mit einem Schmelzpunkt von 165 - 166°C. (Lit.[60] Smp. 166 - 167°C). Ausbeute: 50.3 g = 87% d.Th..

b) 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranose

18 g (0.03 Mol) 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-O-triphenylmethyl-β-D-glucopyranose wurden in 100 ml Eisessig gelöst und ca.

1 Stde. auf dem Dampfbad erhitzt. Nachdem die Lösung auf ca. 10°C mit Hilfe eines Eisbades abgekühlt worden war, wurde 8 ml einer gesättigten HBr/Eisessig-Lösung hinzugefügt und 1 Min. lang kräftig geschüttelt. Der ausgefallene Triphenylmethylbromid-Niederschlag wurde unverzüglich mit einer Glasfritte G 4 abgesaugt und das Filtrat in 500 ml Eiswasser gegossen. Anschließend wurde 2mal mit 200 ml Chloroform ausgeschüttelt, die vereinigten Chloroformextrakte 4mal mit 200 ml gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet, bei 40°C eingeengt und direkt aus absolutem Äther kristallisiert.

Schmelzpunkt: 129 - 131°C (Lit.[60] Smp. 129 - 130°C).

Ausbeute: 9.3 g = 89% d.Th.

c) β-Primverose-heptaacetat[60]

2.5 g 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranose wurden zusammen mit 1.8 g Silberoxyd und 7 g Drierite^{R} in 7 ml vorgetrocknetem Chloroform unter völligem Ausschluß von Feuchtigkeit 1 Stde. gerührt. Nach Zugabe einer Spatelspitze Jod wurde mit 2.5 g frisch kristallisierter α-Acetobromxylose zu oben genannter Verbindung gekuppelt. Nach der üblichen Aufarbeitung und Reinigung kristallisierten wir aus absolutem Äther um und erhielten weiße Kristalle mit einem Schmelzpunkt von 216 - 217°C. (Lit.[60] Smp. 217°C).

Ausbeute: 2.1 g = 55% d.Th.

d) α-Acetobromprimverose

40 mg β-Primverose-heptaacetat wurden in 0.4 ml trockenem Dichlormethan gelöst und bei genau 0°C 0.1 ml einer 40%igen Lösung aus Bromwasserstoff in Eisessig zugetropft. Die Lösung wurde 1 1/2 Stdn. bei 0°C aufbewahrt, anschließend mit Dichlormethan verdünnt, 3mal mit 25 ml Eiswasser, 2mal mit 25 ml einer 10%igen Natriumhydrogencarbonatlösung und nochmals mit 3mal 25 ml Eiswasser gewaschen, mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und bei 40°C einrotiert, bis man schließlich einen gelblichen Sirup erhielt. Mit Hilfe präparativer Dickschichtchromatographie (Laufmittel:

Toluol/Äthylacetat 1:1) konnte die Zone zwischen R_f 0.4 - 0.5 eluiert und direkt zu einer Glykosidierung verwendet werden. Eine Kristallisation gelang im Gegensatz zum entsprechenden Chlorzucker nicht.

NMR-Spektrum, $CDCl_3$, TMS int.
δ(ppm): 1.9 - 2.15 (18 H, OAc), 3.6 - 5.6 (12 H, Zuckerprotonen), 6.45 (1 H, d, J = 3 Hz, H-1).

D. Nach einer modifizierten HELFERICH u. ZIRNER-Methode[62)]

a) Kupplung von 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranose mit α-Brom-D-xylopyranose-triacetat zu β-Primverose-heptaacetat

8 g kristalline 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranose und 10.4 g frisch umkristallisiertes α-Brom-D-xylopyranose-triacetat wurden in 40 ml Acetonitril, das zuvor über Phosphorpentoxyd destilliert wurde, gelöst und vorsichtig in eine Lösung, bestehend aus 3.4 g Quecksilber-II-cyanid und 4.8 g Quecksilber-II-bromid in 40 ml Methylcyanid, getropft. Anschließend wurde 2 Stdn. bei Zimmertemperatur unter völligem Ausschluß von Feuchtigkeit gerührt. Hierauf wurde am Rotationsverdampfer bis zur Bildung von weißem Schaum eingeengt, in abs. Chloroform aufgenommen und von den unlöslichen Quecksilbersalzen abfiltriert. Wir schüttelten dann 5mal mit je 30 ml 1-normaler Kaliumbromidlösung und 2mal mit Eiswasser aus, trockneten die Chloroformphase mit Natriumsulfat sicc., filtrierten, engten bei 40°C ein und kristallisierten aus 20 ml abs. Äther um.

Schmelzpunkt: 216°C. Ausbeute: 6.5 g = 40% d.Th.

b) α-Acetobromprimverose

Die Bromierung von β-Primverose-heptaacetat erfolgte wie oben beschrieben mit einer 40%igen Lösung aus Bromwasserstoff in Eisessig.

Anmerkung: Wie oben erwähnt, war eine Kristallisation des Bromzuckers nicht möglich, doch nach einer Reinigung über Dickschichtplatten konnte er erfolgreich zur Glykosidierung eingesetzt werden.

2. 1,3-Dihydroxy-7-methoxy-xanthon-3-O-β-(hexa-O-acetyl)-primverosid (XIV)

320 mg 1,3-Dihydroxy-7-methoxy-xanthon (Isogentisin) wurden in der üblichen Methode mit 900 mg α-Acetobromprimverose unter Zusatz von Silbercarbonat und Drierite^{R} in trockenem Pyridin glykosidiert. Das Reaktionsgemisch wurde 24 Stdn. unter Ausschluß von Feuchtigkeit und Licht gerührt und anschließend in der schon beschriebenen Art aufgearbeitet. Nach Reinigung über Dickschichtplatten wurde aus Alkohol/Äther kristallisiert. Wir erhielten gelbe Nadeln mit einem Schmelzpunkt von 202 - 203°C.

Ausbeute: 8.9 mg = 9% d.Th.

$C_{37}H_{40}O_{20}$ (804.7) Ber. C 54.01 H 4.86
Gef. C 53.82 H 4.79

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{26}$ = -39.5° (c = 0.684 in Chloroform)

DC: Kieselgel/TÄ 1:1 R_f 0.37

NMR-Spektrum, $CDCl_3$, TMS int.
δ(ppm): 1.7 - 2.2 (18 H, OAc), 3.6 - 4.4 (9 H, OMe und Zuckerprotonen), 4.8 - 5.7 (7 H, Zuckerprotonen), 6.5 (1 H, d, J = 2 Hz, H-2), 6.6 (1 H, d, J = 2 Hz, H-4), 7.25 - 7.75 (3 H, H-5, H-6, H-8), 12.95 (1 H, s, OH-1).

3. 1-Acetoxy-3-hydroxy-7-methoxy-xanthon-3-O-β-(hexa-O-acetyl)-primverosid (XV)

0.2 g von XIV wurdenin 2 ml Essigsäureanhydrid gelöst und mit 300 mg frisch geschmolzenem, fein zerstoßenem Natriumacetat versetzt. Anschließend wurde 5 Min. auf dem Wasserbad erhitzt und 3 Stdn. bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Das Reaktionsgemisch wurde dann in 20 ml Eiswasser eingerührt, der ausfallende Niederschlag wurde abfiltriert, getrocknet und aus Benzol/Petroläther 1:1 umkristallisiert.
Wir erhielten farblose Nadeln mit einem Schmelzpunkt von 197 - 198°C. (Lit.[7] Smp. 196 - 197°C).

Ausbeute: 178 mg = 85% d.Th.

$C_{39}H_{42}O_{21}$ (846.7) Ber. C 55.31 H 4.96
Gef. C 55.28 H 4.83

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{26} = -52.4^\circ$ (c = 0.2555 in Chloroform)

DC: Kieselgel/TÄ 1:1 R_f 0.24

NMR-Spektrum, $CDCl_3$, TMS int.
δ(ppm): 1.9 - 2.15 (18 H, OAc), 2.5 (3 H, s, OAc-1), 3.6 - 5.5 (16 H, OMe und Zuckerprotonen), 6.7 (1 H, d, J = 2 Hz, H-2), 7.05 (1 H, J = 2 Hz, H-4), 7.2 - 7.75 (3 H, H-5, H-6, H-8).

4. 1,3-Dihydroxy-7-methoxy-xanthon-3-O-β-primverosid (XVI)
0.3 g von XIV wurdenin 3 ml Methanol p.A. gelöst, mit 3 Tropfen 5.4%iger Natriummethylatlösung versetzt und 24 Stdn. bei Zimmertemperatur gut verschlossen aufbewahrt. Anschließend wurde mit Trockeneis neutralisiert, filtriert, bei 40°C eingeengt und aus Methanol abs. umkristallisiert. Wir erhielten gelbe Nadeln mit einem Schmelzpunkt von 266 - 267°C. (Lit.[7]) Smp. 265 - 267°C).
Der Mischschmelzpunkt mit dem isolierten Naturprodukt zeigte keine Depression.

Ausbeute: 145 mg = 70% d.Th.

$C_{25}H_{28}O_{14}$ (552.5) Ber. C 54.35 H 5.32
Gef. C 54.03 H 5.11

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{26} = -27.7^\circ$ (c = 1.37 in Pyridin)

DC: Kieselgel/ÄMW R_f 0.37
Polyamid/MW R_f 0.57
Polyamid/TME R_f 0.83

UV-Spektren: EtOH: 371, 303, 260, 236
λ[nm] + AcONa: 371, 303, 260, 236
+ $AlCl_3$: 426, 325, 317, 275, 232

NMR-Spektrum, DMSO-d_6 + D_2O, TMS int.
δ(ppm): 3.0 - 5.5 (16 H, OMe und Zuckerprotonen), 6.48 (1 H, d, J = 2 Hz, H-2), 6.78 (1 H, d, J = 2 Hz, H-4), 7.4 - 7.78 (3 H, m, H-5, H-6, H-8).

Massenspektrum, m/e (rel. Int.), PMÄ
M^+ 552(3), 475(3), 459(3), 379(6), 347(96), 295(45), 258(22), 229(43), 175(95), 143(98), 115(37), 111(19), 101(100), 99(67).

Xanthon-1-O-glykoside

I. Synthese von 1-Hydroxy-3-methoxy-xanthon-1-O-β-cellobiosid

1. 1-Hydroxy-3-methoxy-xanthon

228 mg (1 mMol) frisch kristallisiertes und getrocknetes 1,3-Dihydroxy-xanthon wurde in 3 ml destilliertem Aceton gelöst und nach Zugabe von 0.5 g frisch geglühtem Kaliumcarbonat wurde unter Rühren langsam 127 mg (= 1 mMol) destilliertes, über Kaliumcarbonat getrocknetes, Dimethylsulfat hinzugefügt. Wir hielten die Temperatur 4 Stdn. auf 50 - 60°C und rührten unter völligem Ausschluß von Luft und Feuchtigkeit.
Anschließend wurde mit Aceton p.A. verdünnt, von den unlöslichen Salzen abfiltriert, mit kochendem Aceton mehrmals nachgewaschen, eingedampft und aus Äthanol/Methanol auskristallisiert.

$C_{14}H_{10}O_4$ (241.8) Aussehen: gelbe Plättchen. Schmelzpunkt: 247°C. Ausbeute: 105 mg = 40% d.Th.

DC: Kieselgel/ÄMW R_f 0.94; Kieselgel/TÄ 1:1 R_f 0.82
$FeCl_3$-Reaktion: + (hellbraun)

2. 1-Hydroxy-3-methoxy-xanthon-1-O-β-(hepta-O-acetyl)-cellobiosid

121 mg (0.5 mMol) 1-Hydroxy-3-methoxy-xanthon wurden in 5 ml trockenem Pyridin gelöst und nach Zugabe von 3 g Sikkon 30 Min. gerührt. Im Anschluß daran wurden 300 mg α-Acetobromcellobiose und 140 mg Silbercarbonat hinzugefügt und weitere 3 Stdn. unter Ausschluß von Licht und Feuchtigkeit gerührt. Nach Ablauf dieser Zeit wurden wei-

tere 300 mg und dann im Abstand von jeweils 1 Stde. jedesmal 100 mg Acetobromzucker (insgesamt 800 mg) zum Reaktionsgemisch gegeben und 48 Stdn. gerührt.

Das braunrote Gemisch wurde schließlich in 200 ml 10%ige, eisgekühlte Natriumchloridlösung eingerührt, der Niederschlag abgesaugt und mit viel Wasser von Pyridin freigewaschen. Zur Entfernung von Verunreinigungen filtrierten wir zunächst über Kieselgel (LM TÄ 1:1), um anschließend mit Hilfe von präparativen Dickschichtplatten ein weitgehend sauberes Produkt zu erhalten (Smp. 236°C). Nach Umkristallisieren mit Chloroform/n-Hexan konnte der Schmelzpunkt wesentlich genauer bestimmt werden. Man erhielt farblose Nadeln, Schmelzpunkt 236°C.

Ausbeute: 78 mg = 19% d.Th.

$C_{40}H_{44}O_{21}$ (860.7) Ber. C 55.86 H 5.15
Gef. C 55.36 H 5.03

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{25} = -57.5^\circ$ (c = 0.562 in Chloroform)

DC: Kieselgel/TÄ 1:1 R_f 0.38; Kieselgel/ÄMW R_f 0.80

NMR-Spektrum, $CDCl_3$, TMS int.
δ(ppm): 1.85 - 2.25 (40 H, OAc), 3.9 (3 H, s, OMe-3), 4.0 - 5.5 (40 H, Zuckerprotonen), 6.64 (1 H, d, J = 2 Hz, H-2), 6.72 (1 H, d, J = 2 Hz, H-4), 7.2 - 7.7 (3 H, m, H-5, H-6, H-7), 8.2 (1 H, dd, J = 2 Hz und 7 Hz, H-8).

3. 1-Hydroxy-3-methoxy-xanthon-1-O-β-cellobiosid

25 mg des Kondensationsproduktes wurde in Methanol p.A. gelöst und wie üblich mit einer 5.4%igen, frisch zubereiteten Natriummethylatlösung verseift.
Nach 5 Stdn. wurde mit Trockeneis neutralisiert, im Vakuum eingeengt und der Rückstand aus Äthanol/Methanol (1:5) zur Kristallisation gebracht. Nach erneuter Umkristallisation erhielten wir schwach gelb gefärbte, feine Nädelchen mit einem Schmelzpunkt von 207 - 208°C.

Ausbeute: 16 mg = 80% d.Th.

$C_{26}H_{30}O_{14}$ (566.5) Ber. C 55.12 H 5.29
Gef. C 55.01 H 5.515

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{24} = -44.4^\circ$ (c = 0.402 in Pyridin)

DC: Kieselgel/ÄMW R_f 0.25

NMR-Spektrum, DMSO-d_6 + TFA, TMS int.
δ(ppm): 3.1 - 4.2 (14 H, OMe-3 und Zuckerprotonen), 4.4 - 4.5 (1 H, H-1"), 5.0 (1 H, H-1'), 6.78 (1 H, d, J = 2 Hz, H-2), 6.92 (1 H, d, J = 2 Hz, H-4), 7.2 - 7.8 (3 H, m, H-5, H-6, H-7), 8.2 (1 H, dd, J = 2 Hz und 7 Hz, H-8).

II. Synthese von 1,3-Dihydroxy-5-methoxy-xanthon-1-O-β-D-glucopyranosid

1. 1,3-Dihydroxy-5-methoxy-xanthon

12 g o-Vanillin wurde mittels einer Alkalischmelze zu o-Vanillinsäure oxidiert. Hierzu wurden 16.5 g Kaliumhydroxidplätzchen zusammen mit 4 ml Wasser geschmolzen und unter ständigem Rühren mit einem Glasstab wurde die abgewogene Menge o-Vanillin in mehreren kleinen Portionen der Schmelze zugefügt. Dabei sollte die Temperatur nicht über 180°C steigen. Nach 20-minütigem Erhitzen bei möglichst konstanter Temperatur wurde die grüngelbe Masse abgekühlt, zerkleinert und in reichlich Eiswasser eingerührt. Nach Ansäuern mit konz. Salzsäure wurde der ausgefallene weiße Niederschlag abgesaugt, getrocknet und weiterverarbeitet (Smp. 151°C).

2.4 g Phloroglucin und 2.0 g o-Vanillinsäure wurden in 20 ml Phosphoroxitrichlorid suspendiert und nach Zugabe von 8 g frisch geschmolzenem, fein zerstoßenem Zinkchlorid erhitzten wir zuerst 1 Stde. bei Zimmertemperatur, dann 6 Stdn. bei 60°C unter Rückfluß und ließen dabei heftig rühren. Nach Ablauf der Reaktionszeit wurde das orangerote Produkt in 1 l Eiswasser gerührt und 2 Stdn. stehengelassen. Der ausgefallene Niederschlag wurde abgesaugt, wiederholt mit Wasser gewaschen und über eine Kieselgelsäule mit

dem Laufmittel Äthylacetat-Methanol-Wasser (100:16.5:13.5) chromatographiert.

Aus Äthanol erhielten wir dunkelgelbe Kristalle mit einem Schmelzpunkt von 279°C (Lit.[63] Smp. 278 - 280°C).

Ausbeute: 1.69 g = 33% d.Th.

$C_{14}H_{10}O_5$ (258.2) Ber. C 65.12 H 3.90
Gef. C 64.70 H 3.79

DC: Kieselgel/TÄ 1:1 R_f 0.65; Kieselgel/ÄMW R_f 0.84
$FeCl_3$-Reaktion: + (braun)
UV 256 nm: blaue Löschung
UV 360 nm: rotbraune Löschung

NMR-Spektrum, DMSO-d_6, TMS int.
δ(ppm): 4.0 (s, 3 H, OMe-5), 6.25 (1 H, d, J = 2 Hz, H-2), 6.45 (1 H, d, J = 2 Hz, H-4), 7.35 (m, 2 H, H-6, H-7), 7.7 (dd, 1 H, J = 2 Hz und 7 Hz, H-8), 12.88 (s, 1 H, OH-1).

2. 1,3-Diacetoxy-5-methoxy-xanthon

1 g gut getrocknetes 1,3-Dihydroxy-5-methoxy-xanthon wurde in 10 ml Essigsäureanhydrid gelöst und 15 Min. unter Rückfluß erhitzt. Anschließend wurden der Lösung, die zuerst abgekühlt worden war, 3 Tropfen konz. Schwefelsäure hinzugefügt. Nach 24stündigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde wie üblich auf Eiswasser gegossen, der ausfallende Niederschlag abgesaugt und aus Aceton/Äthanol umkristallisiert. Man erhielt farblose Kristalle mit einem Schmelzpunkt von 206 - 207°C.

Ausbeute: 1.18 g = 90% d.Th.

$C_{18}H_{14}O_7$ (342.3) Ber. C 63.15 H 4.12
Gef. C 63.0 H 4.07

DC: Kieselgel/TÄ 1:1 R_f 0.74
UV 254/360 nm: blaue Fluoreszenz

NMR-Spektrum, $CDCl_3$, TMS int.
δ(ppm): 2.34 (s, 3 H, OAc-3), 2.49 (s, 3 H, OAc-1), 4.05 (s, 3 H, OMe-5), 6.82 (d, 1 H, J = 2 Hz, H-2), 6.9 (d, 1 H, J = 2 Hz, H-4), 7.2 (m, 2 H, H-6, H-7), 7.84 (dd, 1 H, J = 2 Hz und 7 Hz, H-8).

3. 1-Hydroxy-3-benzyloxy-5-methoxy-xanthon

300 mg 1,3-Diacetoxy-5-methoxy-xanthon wurdenin 10 ml Aceton p.A. gelöst und nach Zugabe von 2 g frisch geglühtem Kaliumcarbonat und einer Spatelspitze Kaliumjodid mit 140 mg Benzylchlorid versetzt. Anschließend wurde 6 Stdn. unter Rückfluß bei 60°C erhitzt und danach weitere 30 - 40 Stdn. bei Zimmertemperatur geschüttelt. Nach Ablauf dieser Zeit wurde das Gemisch mit Aceton verdünnt, von Kaliumcarbonat abfiltriert, mit einer kleinen Menge Wasser versetzt und einer Wasserdampfdestillation unterzogen. 6 - 8 Stdn. nach Beendigung der Destillation setzte sich ein grünlichgelber Niederschlag ab. Dieser wurde abgesaugt, gründlich gewaschen, in 75%igem Äthanol gelöst und tropfenweise mit Wasser versetzt. Man erhielt lange, weiße Nadeln, Schmelzpunkt 179°C.

Ausbeute: 213.6 = 70% d.Th.

DC: Kieselgel/TÄ 1:1 R_f 0.87
UV 360 nm: braunrote Löschung
$FeCl_3$-Reaktion: + (braunrot)

$C_{21}H_{16}O_5$ (348.3) Ber. C 72.43 H 4.62
Gef. C 72.12 H 4.49

NMR-Spektrum, $CDCl_3$, TMS int.
δ(ppm): 4.05 (3 H, s, OMe-5), 5.2 (2 H, s, Ph-$\underline{CH_2}$-3), 6.48 (1 H, d, J = 2 Hz, H-2), 6.7 (1 H, d, J = 2 Hz, H-4), 7.2 (m, 2 H, H-6, H-7), 7.44 (m, 5 H, Aromat), 7.84 (dd, 1 H, J = 2 Hz und 7 Hz, H-8), 12.88 (1 H, s, OH-1).

4. 1-Hydroxy-3-benzyloxy-5-methoxy-xanthon-1-O-β-D-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)-glucopyranosid

Eine Lösung von 340 mg 1-Hydroxy-3-benzyloxy-5-methoxy-xanthon in 5 ml trockenem Pyridin wurde mit 340 mg Silbercarbonat versetzt und nach Zugabe von 500 mg frisch kristallisierter α-Acetobromglucose unter Ausschluß von Licht und Feuchtigkeit eine 1/2 Stde. gerührt. In Abständen von 2 Stdn. gaben wir zum Reaktionsgemisch weitere Portionen

von α-Acetobromglucose (insgesamt 1.5 g). Nach 18 Stdn. wurde das Gemisch aufgearbeitet und das Rohprodukt über Kieselgel chromatographiert (LM TÄ 1:1).
Umkristallisieren der Glucosidfraktion aus Aceton/Äther 1:1 ergab durchscheinende, weißgraue Kristallplättchen mit einem Schmelzpunkt von 164°C.

Ausbeute: 146.3 mg = 22% d.Th.

$C_{35}H_{34}O_{14}$ (678.5) Ber. C 61.95 H 5.05
Gef. C 61.60 H 4.99

DC: Kieselgel/TÄ 1:1 R_f 0.55; Kieselgel/ÄMW R_f 0.87
UV 360 nm: blaue Fluoreszenz

NMR-Spektrum, $CDCl_3$, TMS int.
δ(ppm): 2.0 - 2.2 (12 H, OAc), 4.0 (s, 3 H, OMe-5), 4.18 - 4.4 (3 H, CH_2O-6', H-5'), 5.1 - 5.5 (4 H, H-1', H-2', H-3', H-4'), 6.78 (1 H, d, J = 2 Hz, H-2), 6.88 (1 H, d, J = 2 Hz, H-4), 7.24 (m, 2 H, H-6, H-7), 7.85 (dd, 1 H, J = 2 Hz und 7 Hz, H-8).

5. 1,3-Dihydroxy-5-methoxy-xanthon-1-O-β-D-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)-glucopyranosid

50 mg des Kondensationsproduktes wurden in 5 ml Äthylacetat gelöst und nach Zugabe von 10% Palladium-Aktivkohle solange unter Wasserstoffatmosphäre hydriert (ca. 4 Stdn.), bis chromatographisch kein Ausgangsprodukt mehr nachzuweisen war. Die Lösung wurde dann gründlich von der Kohle abfiltriert, eingeengt, mit Toluol nachgewaschen und aus Äthanol umkristallisiert.
Wir erhielten hellgelbe Kristalle mit einem Schmelzpunkt von 212 - 213°C.

Ausbeute: 41.2 mg = 95% d.Th.

$C_{28}H_{28}O_{14}$ (588.5) Ber. C 57.19 H 4.92
Gef. C 57.14 H 4.79

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{26} = -83.8^\circ$ (c = 0.9017 in Chloroform)

DC: Kieselgel/TÄ 1:1 R_f 0.35
UV 254/360 nm: blaue Fluoreszenz
$FeCl_3$-Reaktion: sehr schwach +

NMR-Spektrum, $CDCl_3$, TMS int.
δ(ppm): 2.05 - 2.25 (12 H, OAc), 3.98 (s, 3 H, OMe-5), 4.2 - 4.4 (3 H, CH_2O-6', H-5'), 5.2 - 5.55 (4 H, H-1', H-2', H-3', H-4'), 6.68 - 6.88 (m, 2 H, H-2, H-4), 7.2 (m, 2 H, H-6, H-7), 7.8 (dd, 1 H, J = 2 Hz und 7 Hz, H-8).

6. 1-Hydroxy-3-acetoxy-5-methoxy-xanthon-1-O-β-D-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)-glucopyranosid

32 mg 1-O-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-3-hydroxy-5-methoxy-xanthon wurden in 5 ml Eisessig unter Zugabe von 4 Tropfen Pyridin 15 Min. unter Rückfluß erwärmt und anschließend 4 - 5 Stdn. bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Anschließend wurde in Eiswasser gefällt und wie üblich aufgearbeitet.

Aus Äthanol erhielt man farblose Kristalle mit einem Schmelzpunkt von 162°C. (Lit.[74] Smp. 158 - 161°C).

Ausbeute: 31 mg = 90% d.Th.

$C_{30}H_{30}O_{15}$ (630.4) Ber. C 57.15 H 4.79
Gef. C 57.11 H 4.63

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{25} = -65.3^\circ$ (c = 0.1787 in Chloroform)

DC: Kieselgel/TÄ 1:1 R_f 0.49

NMR-Spektrum, $CDCl_3$, TMS int.
δ(ppm): 2.05 - 2.48 (12 H, OAc), 4.02 (s, 3 H, OMe-5), 4.2 - 4.4 (3 H, CH_2O-6', H-5'), 5.2 - 5.45 (4 H, H-1', H-2', H-3', H-4'), 6.88 (1 H, d, J = 2 Hz, H-2), 6.92 (1 H, d, J = 2 Hz, H-4), 7.2 (m, 2 H, H-6, H-7), 7.8 (dd, 1 H, J = 2 Hz und 7 Hz, H-8).

7. 1,3-Dihydroxy-5-methoxy-xanthon-1-O-β-D-glucopyranosid

60 mg 1-O-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-3-hydroxy-5-methoxy-xanthon wurden in 5 ml Methanol p.A. gelöst und unter Rühren 3 Tropfen frisch zubereitete 0.7 n Natrium-methylatlösung hinzugefügt. Nach 5 Stdn. war chromatographisch kein Acetat mehr nachweisbar. Vorsichtig

wurde mit Dowex^{R} Ionenaustauscherharz neutralisiert und bei 30°C eingeengt. Eine Kristallisation aus Methanol war nur bedingt möglich (Zersetzung !). Smp.: 211 - 212°C (Lit.[74] Smp. 210 - 212°C).

Ausbeute: 25 mg = 58% d.Th.

$C_{20}H_{20}O_{10}$ (420.4) Ber. C 57.09 H 4.79
Gef. C 55.36 H 4.67
(Lit.[74] C 54.3 ! H 5.05)

DC: Kieselgel/ÄMW R_f 0.52; Kieselgel/BEW R_f 0.72; Kieselgel/PÄW R_f 0.76; Kieselgel/TMW R_f 0.58

UV-Spektrum, λ[nm] (log ε), MeOH
245(4.23), 253 (4.09), 275(3.83), 308(3.91)

Massenspektrum, m/e (rel. Int.), PMÄ
M^+-, 272(100), 243(43), 218(62), 101(90)

III. Synthese von 1-Hydroxy-3,7,8-trimethoxy-xanthon-1-O-β-primverosid (Decussatin-1-O-primverosid)

1. 1-Hydroxy-3,7,8-trimethoxy-xanthon-1-O-β-(hexa-O-acetyl)-primverosid

70 mg 1-Hydroxy-3,7,8-trimethoxy-xanthon (Decussatin) wurden in 5 ml Pyridin gelöst und nach Zugabe von 3 g Sikkon 30 Min. bei Zimmertemperatur gerührt. Nach Zugabe von 200 mg α-Acetobromprimverose, die zuerst in Pyridin gelöst worden war und 140 mg Silbercarbonat wurde unter Ausschluß von Licht und Feuchtigkeit eine weitere Stunde gerührt und nochmals 100 mg gelöste α-Acetobromprimverose hinzugetropft. Dieser Vorgang wurde in 30-minütigem Abstand noch 2mal wiederholt, so daß wir insgesamt 500 mg Bromzucker verbrauchten.

Nach einer Reaktionszeit von 40 Stdn. wurde nach dem üblichen Verfahren aufgearbeitet, über Kieselgel gereinigt und aus Äthanol/n-Hexan umkristallisiert. Wir er-

hielten weiße Nadeln mit einem Schmelzpunkt von 108°C.

Ausbeute: 39.3 mg = 19.8% d.Th.

$C_{39}H_{42}O_{21}$ (846.7) Ber. C 55.32 H 4.99
Gef. C 54.94 H 4.43

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{27.5}$ = -34.65 (c = 0.3655 in Chloroform)

DC: Kieselgel/TÄ 1:1 R_f 0.3
UV 360 nm: hellblaue Fluoreszenz

NMR-Spektrum, $CDCl_3$, TMS int.
δ(ppm): 1.9 - 2.2 (18 H, OAc), 3.3 - 5.5 (21 H, Zuckerprotonen), 3.85 (s, 3 H, OMe-7), 3.87 (s, 3 H, OMe-3), 3.92 (s, 3 H, OMe-8).

2. 1-Hydroxy-3,7,8-trimethoxy-xanthon-1-O-β-primverosid

20 mg des Kupplungsproduktes wurden mit Methanol/Natriummethylat wie üblich verseift und aufgearbeitet. Aus Methanol erhielten wir hellgelbe Kristalle mit einem Schmelzpunkt von 192°C (Lit.[22] Smp. 192 - 193°C).

Ausbeute: 14 mg = 95% d.Th.

$C_{27}H_{32}O_{15}$ (596.1) Ber. C 54.38 H 5.36
Gef. C 53.89 H 5.24

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{25}$ = -54.45 (c = 0.630 in Pyridin/Uvasol)

DC: Kieselgel/ÄMW R_f 0.39; Polyamid/MWE R_f 0.92

UV-Spektrum, λ[nm], MeOH: 244, 251, 302, 355

IR-Spektrum, cm^{-1}: 3200 (b) OH, 1640, 1620, 1580 (strukturiert), C=O, 1270 (m) -C-O- od. OH, 1040 (strukturiert) -C-O- Zucker

Massenspektrum, m/e (rel.Int.), PMÄ:
M^+-, 505(8), 489(3), 379(3), 347(20), 302(49), 287(49), 273(13), 175(41), 143(69), 101(100), 99(56), 88(59), 75(51)

IV. Synthese von 1,7-Dihydroxy-3,8-dimethoxy-xanthon-1-O-β-primverosid (Gentiacaulein-1-O-β-primverosid)

1. 1-Hydroxy-3,8-dimethoxy-7-acetoxy-xanthon

0.6 g Borsäure krist. wurden mit 6 ml Essigsäureanhydrid 1 Stde. unter Rückfluß erhitzt und abgekühlt. Nach spätestens 4 Stdn. trat Verfestigung ein. Der Niederschlag wurde gut gewaschen, bis kein Geruch nach Essigsäure mehr wahrnehmbar war.

180 mg 1,7-Dihydroxy-3,8-dimethoxy-xanthon (Gentiacaulein) und 120 mg Borsäuretriacetat wurden in 5 ml Essigsäureanhydrid aufgeschlämmt und anschließend 10 Min. bei 90 - 100°C unter Rückfluß erhitzt. Die intensiv gelb gefärbte Lösung ließen wir mindestens 24 Stdn. bei Zimmertemperatur gut verschlossen stehen, versetzten dann mit ca. 20 ml Wasser und erhitzten einige Minuten sehr kräftig. Nach Abkühlen der immer noch gelb gefärbten Lösung wurde 3 ml Eisessig dazugegeben und nochmals 2 Stdn. stehengelassen. Allmählich setzte sich ein weißlich-gelber Niederschlag ab, der sich nach 5 Stdn. nicht mehr vermehrte. Der Niederschlag wurde abgesaugt, gut gewaschen und aus Äthanol umkristallisiert. Wir erhielten hellgelbe Nadeln mit einem Schmelzpunkt von 198°C.

Ausbeute: 92.7 mg = 45% d.Th.

DC: Kieselgel/TÄ 1:1 R_f 0.78
$FeCl_3$-Reaktion: + (blaugrau)

NMR-Spektrum, $CDCl_3$, TMS int.
δ (ppm): 2.35 (s, 3 H, OCH_3-8), 3.92 (s, 3 H, OAc-7), 6.39 (m, 2 H, H-2, H-4), 7.20 (1 H, d, J = 2 Hz, H-5), 7.41 (1 H, d, J = 2 Hz, H-6), 13.1 (1 H, s, OH-1).

2. 1-Hydroxy-3,8-dimethoxy-7-acetoxy-xanthon-1-O-β-(hexa-O-acetyl)-primverosid

180 mg 1-Hydroxy-3,8-dimethoxy-7-acetoxy-xanthon wurden in 7 ml Pyridin gelöst und zusammen mit 3 g Sikkon 30 Min. bei Zimmertemperatur gerührt. Anschließend wurde wieder in Abständen von 1 Stde. je 100 mg α-Acetobromprimverose (insge-

samt 900 mg) hinzugefügt und 40 Stdn. unter Ausschluß von Licht und Feuchtigkeit gerührt. Dann wurde nach der oft beschriebenen Methode aufgearbeitet, mit Kohle geklärt, über Kieselgel gereinigt und aus Methanol/Äther umkristallisiert. Man erhielt farblose Kristalle mit einem Schmelzpunkt von 123°C.

Ausbeute: 47.8 = 10% d.Th.

$C_{40}H_{44}O_{22}$ (876.7) Ber. C 55.70 H 5.05
Gef. C 55.41 H 4.97

DC: Kiselgel/TÄ 1:1 R_f 0.28

NMR-Spektrum, $CDCl_3$, TMS int.
δ (ppm): 2.23 (s, 3 H, OAc-7), 3.15 - 3.4 (21 H, Zuckerprotonen), 3.9 (s, 3 H, OMe-3), 3.96 (s, 3-H, OMe-8), 6.52 (m, 2 H, H-2, H-4), 7.2 (d, 1 H, J = 12, 5 Hz, H-5), 7.49 (d, 1 H, J = 2 Hz, H-6).

3. 1,7-Dihydroxy-3,8-dimethoxy-xanthon-1-O-β-primverosid

80 mg des Kupplungsproduktes wurden in 3 ml Methanol p.A. gelöst und mit 3 Tropfen 0.7 n Natrium-methylatlösung versetzt. Nach 6 Stdn. war chromatographisch kein Acetat mehr nachweisbar. Es wurde in der üblichen Art aufgearbeitet und aus Methanol umkristallisiert.
Wir erhielten hellgelbe Kristalle mit einem Schmelzpunkt von 162 - 163°C. (Lit.[23] Smp. 163°C).

Ausbeute: 45 mg = 85% d.Th.

$C_{26}H_{30}O_{15}$ (582.1) Ber. C 53.54 H 5.12
Gef. C 53.12 H 4.98

DC: Kieselgel/ÄMW R_f 0.32; Polyamid/MWE R_f 0.85

UV-Spektrum, λ[nm], MeOH 242, 252, 303, 362

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1) ROBERTS, J.C., Chem.Rev. 61, 591 (1961)
2) CARPENTER, I., LOCKSLEY, H.D. u. SCHEINMANN F., Phytochem. 89, 1276 (1969)
3) TOMOMORI, T. u. KOMATSU, M., Yakugaku Zasshi 89, 1276 (1969)
4) GHOSAL, S., SHARMA, P.V., CHAUDHURI, R.K., J.Pharm.Sci. 64, 81 (1975)
5) WIECHOWSKI, W., Lotos 56, 61 (1908)
6) PLOUVIER, V., MASSICOT, J. u. RIVAILLE, P., C.R.Acad.Sci. Paris 264, 1219 (1967)
7) CANONICA, L. u. PELIZZONI, F., Gazz.Chim.Ital. 85, 1007 (1955)
8) GHOSAL, S., CHAUHAN, P.S., BISWAS, K. u. CHAUDHURI, R.K., Phytochem. 15, 1041 (1976)
9) HOSTETTMANN, K., TABACCHI, R. u. JACOT-GUILLARMOD, A., Helv.Cheim.Acta 59, 1584 (1974)
10) GOETZ, M., MANILIHO, F. u. JACOT-GUILLARMOD, A., Helv.Chim. Acta 61, 1549 (1978)
11) GHOSAL, S., JAISWAL, K.D. u. BISWAS, K., Phytochem. 17, 2119 (1978)
12) BELLMANN, G. u. JACOT-GUILLARMOD, A., Helv.Chim.Acta 56, 284 (1973)
13) VERNEY, A.M. u. DEBELMAS, A.M., Ann.Pharm.Fr. 31, 415 (1973)
14) INOUYE, H., VEDA, S., INADA, M. u. THUJII, M., Yakugaku Zasshi 91, 1022 (1971)
15) GHOSAL, S., SHARMA, P.V. u. CHAUDHURI, R.K., Phytochem. 14, 2671 (1975)
16) GHOSAL, S. SHARMA, P.V. u. CHAUDHURI, R.K., J.Pharm.Sci. 63, 1286 (1974)
17) TOMIMORI, J., YOSHIZAKI, M. u. NANBA, T., Yakugaku Zasshi 93, 442 (1973)
18) STOUT, G.H. u. BALKENHOL, W.S., Tetrahedron 25, 1947 (1960)
19) KALDAS, M., HOSTETTMANN, K. u. JACOT-GUILLARMOD, A., Helv. Chim.Acta 57, 2557 (1974)
20) KALDAS, M., Phytochem. 17, 295 (1978)
21) HOSTETTMANN, K. u. JACOT-GUILLARMOD, A., Helv.Chim.Acta 57, 294 (1974)
22) HOSTETTMANN, K. u. JACOT-GUILLARMOD, A., Helv.Chim.Acta 57, 1156 (1974)
23) HOSTETTMANN, K. u. JACOT-GUILLARMOD, A., Phytochem. 16, 481 (1977)
24) ARITOMI, M. u. KAWASAKI, T., Chem.Pharm.Bull. 18, 2224 (1970)
25) WAGNER, H., in Progress in the Chemistry of Organic Natural Products (L.ZECHMEISTER), Vol. 31, S. 155, (1974) Springer-Verlag, Wien
26) CARBONNIER, J., MASSIAS, M., JARREAU-CARBONNIER, M.C. u. MOLHO, D., Traveaux lab. de la Jaysinia 4, 169 (1972)
27) RIVAILLE, P., MASSICOT, J., GUYOT, M. u. PLOUVIER, V., Phytochem. 8, 1533 (1969)
28) RIVAILLE, P. u. RAULAIS, D., C.R. Acad.Sci. Paris (D) 269, 1121 (1969)
29) KALDAS, M., HOSTETTMANN, K. u. JACOT-GUILLARMOD, A., Helv. Chim.Acta 88, 2188 (1975)

30) HOSTETTMANN, K. u. WAGNER, H., Phytochem. 16, 821 (1977)
31) SIMPSON, T.H. u. BETON, J.L., Authoxanthius I, J.Chem.Soc. 4065 (1954)
32) GHOSAL, S., SHARMA, P.V. u. CHAUDHURI, R.K., Phytochem. 14, 1393 (1975)
33) CHOPRA, R.N., NAYAR, S.L. u. CHOPRA, I.C., Glossary of Indian Medicinal Plants, C.S.I.R. Neu Delhi, Indien (1956), S. 49
34) OKORIE, D.A., Phytochem. 15, 1799 (1976)
35) FINEGAN, R.A., STEPHANI, R.A., GANGULI, G. u. BHATTACHARYA, S.K., J.Pharm.Sci. 57, 1039 (1968)
36) BHATTACHARYA, S.K., GHOSAL, S., CHAUDHURI, R.K. u. SANYAL, A.K., J.Pharm.Sci. 61, 1839 (1972)
37) BHATTACHARYA, S.K., GHOSAL, S., CHAUDHURI, R.K. u. SANYAL, A.K., J.Pharm.Sci. 61, 1338 (1972)
38) BHATTACHARYA, S.K., SANYAL, A.K. u. GHOSAL, S., Naturwissenschaften 59, 651 (1972)
39) GHOSAL, S., SHARMA, P.V. u. CHAUDHURI, R.K., J.Pharm.Sci. 63, 1286 (1974)
40) GHOSAL, S., SHARMA, P.V., CHAUDHURI, R.K. u. BHATTACHARYA, S.K., J.Pharm.Sci. 64, 80 (1975)
41) VALENTI, P., BORRACCINI, A., DA RE, P. u. CIMA, L., Eur.J. Med.Chem. 4, 387 (1975)
42) KÖNIGS, N. u. KNORR, E., Ber.dtsch.chem.Ges. 34, 957 (1901)
43) FUJISE, S. u. MITUI, S., Ber.dtsch.chem.Ges. 71, 912 (1938)
44) ERBING, B. u. LINDBERG, B., Acta chem.Scand. 23, 2213 (1969)
45) FARKAS, L. u. PALLOS, L., Chem.Ber. 93, 1272 (1960)
46) FARKAS, L., WOLFNER, A., NOGRADI, M., WAGNER, H. u. HÖRHAMMER, L., Chem.Ber. 101 1630 (1968)
47) ZEMPLEN, G. u. FARKAS, L., Ber.dtsch.chem.Ges. 76, 1110 (1943)
48) WULFF, G., RÖHLE, G. u. KRÜGER, W., Chem.Ber. 105, 1097 (1972)
49) KOCHETKOW, N.K., KHORLIN, A.J., BOCKKOV, A.F., Tet.Lett. 289 (1964)
50) CONROW, R.B. u. BERNSTEIN, S., J.Org.Chem. 36, 7 (1971)
51) RÖHLE, G. u. BREUER, H., Hoppe-Seyler's Z.Physiol.Chem. 335, 490 (1974)
52) FISCHER, E., Ber. 44, 1903 (1911)
53) BARCAI-MATOS, M., KORÖSY, F., Nature, London 165, 369 (1950)
54) EDWARD, J.T., Chem. und Ind. 1102 (1955)
55) LEMIEUX, R.K., in P.de Mayo: Molecular Rearrangement, Interscience, New York (1963), 713
56) BRAUNS, D.H., J.Am.chem.Soc. 49, 3170 (1928)
57) ZEMPLEN, G. u. BOGNAR, R., Ber.dtsch.chem.Ges. 1, 47 (1939)
58) CSÜRÖS, Z., DEAK, G., HARASZTHY, M., Periodica Polytech., Budapest 3, 25 (1959)
59) SZABO, J.F., FARKAS, L., BOGNAR, R. u. GROSS, H., Acta Chim. Sci.Hung. 64, 67 (1970)
60) McCLOSKEY, H.J. u. COLEMAN, M.J., J.Am.chem.Soc. 65, 1778 (1943)
61) HELFERICH, B. u. RAUCH, A., Ann. 455, 168 (1927)
62) HELFERICH, B. u. ZIRNER, J., Chem.Ber. 95, 2604 (1962)
63) GROVER, P.K., SHAH, G.D. u. SHAH, R.C., J.Chem.Soc. 13, 3982 (1955)
64) ZEMPLEN, G. u. PASCU, H., Ber.dtsch.chem.Ges. 62, 1613 (1929)
65) SANTESSON, J., Ark.Kemi 30, 479 (1969)
66) JACKSON, B., LOCKSLEY, H.D. u. SCHEINMANN F., Tetrahedron 24, 3059 (1968)

67) HOSTETTMANN, K., TABACCHI, R. u. JACOT-GUILLARMOD, A., Helv.Chim.Acta 60, 2385 (1977)
68) ATKINSON, J.E., GUPTA, P. u. LEWIS, J.R., Tetrahedron 25, 1507 (1969)
69) SUZUKI, O., KATSUMATA, Y., OYA, M., CHARI, V.M., KLAPFENBERGER, R., WAGNER, H. u. HOSTETTMANN, K., Biochem. Pharmakol. 27, 2075 (1978)
70) CHARI, V.M., KLAPFENBERGER, R., WAGNER, H., Z.Naturforsch. 33b, 946-949 (1978)
71) HARBORNE, J.B., MABRY, T.J. u. MABRY, H., The Flavonoids, Chapman and Hall (London), (1975)
72) MIURA, J., HOSTETTMANN, K. u. NAKANISHI, K., Nouv.J.de Chimie 2, 653 (1978)
73) FARKAS, L., VERMES, B. u. NOGRADI, M., Chem.Ber. 105, 3505 (1972)
74) GHOSAL, S., BISWAS, K. u. CHAUDHURI, R.K., Phytochem. 22, 1597 (1977)
75) JOHNSTON, J.P., Biochem.Pharmacol. 17, 1285 (1968)
76) HAASE, H.J., Depressionen, Schattauer Verlag, Stuttgart (1976)
77) Therapie mit Jatrosom R, Symposium Salzburg, Thieme-Verlag, Stuttgart (1969)
78) CAMERON, D.P. u. WISEMAN, E.H., J.med.Chem. 11, 820 (1968)
79) CENTURY, B. u. RUPP, K.L., Biochem.Pharm. 17, 2012 (1968)
80) KRAML, M., Biochem.Pharm. 14, 1684 (1965)
81) DIXON, M., Biochem.J. 55, 170 (1953)
82) McCAMAN, R.E., McCAMAN, M.W., HUNT, J.M. u. SMITH, M.S., J.Neurochem. 12, 15 (1965)
83) SUZUKI, O., NOGUCHI, E. u. YAGI, K., Biochem.Pharmac. 25, 2759 (1976)

Danksagung

Herrn Professor Dr. H. Wagner bin ich für die Anregung und stets großzügige Unterstützung dieser Arbeit aufrichtig dankbar.

Herrn Dr. V.M. Chari danke ich herzlich für die dauernde Diskussionsbereitschaft und die Mitbetreuung dieser Arbeit.

Herrn Professor Dr. O. Suzuki, Nagoya University, Nagoya, Japan, danke ich sehr für die freundliche Zusammenarbeit und die Durchführung der zahlreichen pharmakologischen Tests.

Bei Herrn Dr. K. Hostettmann, Eidgenössische Hochschule Zürich, möchte ich mich für die freundliche Bereitstellung zahlreicher Testsubstanzen herzlich bedanken.

Herrn Dr. O. Seligmann, Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München, danke ich für die Ausführung der Mikroanalysen und Messungen der IR-, NMR-, UV- und Massenspektren.

Herrn Dr. J. Sonnenbichler, Max-Planck-Institut für Biochemie, Martinsried, möchte ich für die NMR-Aufnahmen kleiner Substanzmengen danken.

Schließlich danke ich noch meinem Verlobten, Herrn Apotheker H. Rosen, Max-Planck-Institut für Biochemie, Martinsried, für die hilfreiche Unterstützung in der Interpretation der pharmakologischen Testergebnisse, sowie allen Kolleginnen und Kollegen des Instituts für fruchtbare Diskussionen und ermutigenden Zuspruch zur rechten Zeit.

L E B E N S L A U F

Rosa Gerlinde (Rosalinde)	K l a p f e n b e r g e r
Geboren am:	4. Februar 1952 in München
Eltern:	Hans Klapfenberger, Apotheker und Rosa Klapfenberger geb. Meier
Schulbildung:	Volksschule der Armen Schulschwestern v.U.L.Fr. am Anger in München, vom September 1958 bis Juli 1962
	Neuspr.Gymnasium der Armen Schulschwestern v.U.L.Fr. am Anger in München vom September 1962 bis zur Reifeprüfung im Mai 1971
Berufsausbildung:	
Studium der Pharmazie	vom November 1971 bis Februar 1975
Pharm.Staatsexamen	1. Teil: Oktober 1973 2. Teil: April 1975
Approbation	28. Juni 1976
Wissenschaftliche Tätigkeit	vom 1.11.1975 bis 31.3.1979 wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München Beginn der vorliegenden Arbeit am 1. November 1975 unter der Leitung von Professor Dr.H.Wagner